



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :</b> <b>C07D 207/44, 401/10, A61K 31/445, 31/40</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale: WO 99/42441</b> <b>(43) Date de publication internationale: 26 août 1999 (26.08.99)</b>
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR99/00363 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 18 février 1999 (18.02.99)  <b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 98/02106                      20 février 1998 (20.02.98)                      FR  <b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR).  <b>(72) Inventeurs; et</b> <b>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement):</b> LORET, Erwann [FR/FR]; 1, boulevard des Blés d'Or, F-13009 Marseille (FR). LEBRETON, Jacques [FR/FR]; 55 bis, boulevard Van Iseghem, F-44000 Nantes (FR).  <b>(74) Mandataires:</b> MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		<b>(81) Etats désignés:</b> CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i>
<b>(54) Title:</b> ANTI-RETROVIRAL FUNCTIONALISED AROMATIC COMPOUNDS <b>(54) Titre:</b> COMPOSES AROMATIQUES FONCTIONNALISES ANTI-RETROVIRAUX  <b>(57) Abstract</b> <p>The invention concerns the use of an organic compound comprising an aromatic cycle substituted by at least a hydrocarbon substituent containing at least one proton donor or acceptor function capable of one or several hydrogen bonds to bring about the allosteric inhibition of the Tat protein.</p> <b>(57) Abrégé</b> <p>La présente invention a pour objet l'utilisation d'un composé organique comprenant un cycle aromatique substitué par au moins un substituant hydrocarboné comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton susceptible d'engager une ou des liaisons hydrogène, pour provoquer l'inhibition allostérique de la protéine Tat.</p>		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

"Composés aromatiques fonctionnalisés anti-rétroviraux"

La présente invention a pour objet l'utilisation de composés aromatiques fonctionnalisés pour inhiber la protéine rétrovirale Tat.

5 La présente invention concerne également des nouveaux dérivés du triphène, leur procédé de préparation ainsi que leur utilisation à titre de médicament, notamment pour le traitement d'infections virales comme le syndrome immunodéficitaire acquis (SIDA).

10 Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un rétrovirus du groupe des lentivirus connus pour leur variabilité au sein d'une même cellule hôte durant l'évolution de l'infection, et pour leur réplication constante tout au long de la maladie.

15 Le cycle viral du VIH démarre par la fixation du virus sur une cellule hôte. Le virus pénètre ensuite dans le cytoplasme de la cellule où il est décapsidé. L'ARN libéré est transcrit en ADN double brin grâce à la transcriptase inverse. Une fois l'ADN proviral intégré au génome cellulaire, la réplication virale est activée par une protéine virale, la protéine Tat (Trans-Acting Transcriptional activator). Le cycle viral se termine par le bourgeonnement de nouvelles particules virales à la surface de la cellule.

20 Les seuls agents thérapeutiques qui se sont révélés efficaces contre le SIDA sont des agents bloquant le cycle viral du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Deux types d'agents anti-rétroviraux sont actuellement commercialisés :

- 25 - les inhibiteurs analogues nucléosidiques de la transcriptase inverse, comme la zidovidine (AZT), la didanosine, la stavudine, la zalcitabine, et
- les antiprotéases, qui sont des inhibiteurs de la protéase virale responsable de la formation de virions ; ces antiprotéases, comme le saquinavir, le ritonavir et l'indinavir, agissent à une phase du cycle viral plus tardive que ne le fait l'AZT.

30 Les enzymes de réplication virale, telles que la transcriptase inverse, l'ARN polymérase et la protéase, ont la particularité de commettre un nombre d'erreurs important, avec un taux de réplication rapide, si bien que le VIH possède des taux de mutation et de recombinaison élevés.

C'est pourquoi, l'efficacité des agents thérapeutiques utilisés pour bloquer le cycle viral diminue au fur et à mesure des cycles, suite à l'apparition de souches résistantes parmi les variants.

Pour lutter contre l'apparition de souches résistantes, l'utilisation de  
5 plusieurs agents anti-rétroviraux, agissant chacun à une étape différente du cycle viral, est pour le moment la solution la plus efficace.

Certaines associations ont permis d'obtenir des résultats remarquables avec une virémie pratiquement indécélable chez certains patients. Toutefois l'arrêt du traitement montre que la virémie remonte de manière spectaculaire.  
10 Les cellules réservoirs et l'absence de réaction de certaines lignées lymphocytaires (CTL) chargées d'éliminer les cellules contaminées par le VIH, restent donc des problèmes majeurs.

De plus, de nombreux malades ont suivi des monothérapies et ont donc développés des résistances. Sur ces malades, les multithérapies ont des  
15 effets beaucoup plus limités.

La présente invention concerne des nouveaux types d'agent bloquant le cycle viral, tant par leur structure chimique que par leur mode d'action. Ces nouveaux agents anti-rétroviraux sont des inhibiteurs spécifiques de la protéine virale Tat.

20 La protéine Tat a déjà fait l'objet de nombreuses études. Le gène *tat* est composé de deux exons codant pour une protéine de 86 à 102 résidus selon les isolats.

La protéine Tat est indispensable pour l'expression du génome viral du VIH-1 (Arya, S.K., Guo, C., Josephs, S.F., & Wong-Staal, F. (1985) Science  
25 229, 69-73).

On sait que la réplication virale est déclenchée par Tat selon un mécanisme de transactivation. Le début de l'ARN<sub>m</sub> viral porte une séquence dite TAR (RNA Trans Activation Response Element) en forme de boucle sur laquelle se fixe la protéine TRBP (TAR Binding Protein) qui bloque l'action de  
30 l'ARN polymérase en la complexant. La région basique de Tat adopte une structure étendue, se fixe sur TAR, déplace TRBP et libère l'ARN polymérase, si bien que la transcription peut démarrer (Berkhout, B., A. Gatignol, A.B. Rabson, and K.-T Jeang. (1990) Cell 62. 7257-7267; Loret, E.P., Georgel, P., Johnson, W.C., & Ho, P.S. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 9734-9738).

Il a également été mis en évidence que la protéine Tat est impliquée dans la dérégulation de nombreuses fonctions cellulaires et dans certaines pathologies liées à l'infection. Tat est exprimée de manière très précoce par le génome du virus.

5 On retrouve à la fois Tat à l'intérieur des cellules et dans le milieu extra-cellulaire. Son action ne se restreint pas aux cellules dans lesquelles elle est produite car elle peut traverser la membrane cytoplasmique et pénétrer dans d'autres cellules infectées ou non. On détecte des concentrations nanomolaires de Tat dans le sérum de patients contaminés par le VIH-1  
10 (Westendorp, M.O., Frank, R., Ochsenbauer, C., Stricker, K., Dhein, J., Walczak, H., Debatin, K.M. & Krammer, P.H. (1995) *Nature* 375, 497-500).

En synergie avec le bFGF, Tat favorise le développement du syndrome de Kaposi observé chez de nombreux malades du SIDA (Ensoli, B., Genselman, R., Markham, P., Fiorelli, V., Colombini, S., Raffeld, M., Cafaro,  
15 A., Chang, H.K., Brady, J. N., & Gallo, R. C. (1994) *Nature* 371, 674-680).

Tat présente également une activité cytotoxique spécifique sur certaines lignées lymphocytaires (Westendorp, M. O., Shatrov, V.A., Schulze-Osthoff, K. Frank, R., Kraft, M., Los, M., Krammer, P.H., Dröge, W., & Lehmann, V. (1995) *EMBO* 14, 546-554) et possède une activité immuno-suppressive en réprimant les gènes du CMH (Howcroft, T.K., Strebel, K., Martin, M.A., &  
20 Singer, D.S. (1993) *Science* 260, 1320-1322).

Cette propriété de traverser les membranes est en partie due à sa région basique (Vivès, E., Brodin, P., & Lebleu, B. (1997) *J Biol Chem.* 272, 16010-16017 ; Efthymidias, A., Briggs, L. J., & Jans, D.A. *J Biol Chem.* 273,  
25 1623-1628 (1998)).

La présence aux extrémités N et C-terminal de Tat, de séquences empêchant ou ralentissant sa digestion par des exoprotéases permet d'expliquer que Tat n'est pas dégradée en milieu extra-cellulaire (Loret, E.P., Vives, E., Ho, P.S., Rochat, H., Van Rietschoten, J., & Johnson, W.C. (1991)  
30 *Biochemistry* 30, 6013-6023).

Récemment, le rôle de Tat a été également mis en évidence dans la transcription inverse de l'ARN viral (Harrich, D., Ulich, C., Garcia-Martinez, L.F., & Gaynor, R.B. (1997) *EMBO* 16, 1224-35).

Des antagonistes génériques de l'action de Tat (ARN anti-sens, pièges ARN, mutants transdominants) qui bloquent la transactivation par Tat in vitro se sont avérés inefficaces in vivo (Pearson, L., Garcia, J., Wu, F., Modesti, N., Nelson, J., & Gaynor, R. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 5079-5083 ;  
5 Chang, H. K., Gendelman, R., Lisiewicz, G., Gallo, R.C., & Ensoli, B., (1994) Gene Ther 1, 208-216).

M.C. HSU et al. dans "Science, 254 (1991), 1799-1802" puis dans "Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90 (1993), 6395-6399" ont montré l'effet inhibiteur de dérivés de la benzodiazépine sur l'activité de Tat. Cependant,  
10 ces dérivés agissent sur un facteur cellulaire impliqué dans la fonction Tat et non pas sur Tat, elle-même.

D'autres inhibiteurs de la transactivation ont été décrits plus récemment, comme les dérivés de Quinacrine et de la Chloroquine (Jiang, M. C., Lin, J. K., Chen, S.L. (1996) Biochem. Biophys. Res. Commun. 226, 1-7) ou encore  
15 des dérivés de la Fluoroquinoline, en particulier une molécule appelé K-12 (Baba et al. (1998) Mol. Pharmacol. 6, 1097-1103). Toutefois ces inhibiteurs ne sont pas spécifiques de Tat, et K-12 a une activité antivirale très large allant du VIH-1, VIH-2, SIV jusqu'au virus de l'herpès ou encore de la varicelle (Witrouw et al. (1998) Antivir. Chem. Chemother., 5, 403-411) ce qui montre  
20 que K-12 agit probablement sur un facteur cellulaire.

Enfin, LAPIDO et al. (FEBS Letters, 367 (1995), 33-38) ont décrit un dérivé de la tétrahydropyridine capable de se fixer sur un peptide polyarginine comportant neuf résidus arginines basiques. Ce peptide est capable de se fixer sur TAR mais il semble difficile d'extrapoler ces résultats à la protéine Tat  
25 entière qui ne comprend pas de séquence de neuf arginines.

Il n'existe donc pas dans l'art antérieur de molécules capables de se fixer sur la protéine Tat et d'inhiber son activité in vitro.

La protéine Tat a fait l'objet de plusieurs études structurales.

La région basique de Tat sous forme de structure étendue vient  
30 s'insérer dans le sillon majeur de TAR sans modifier l'hélice de type A que forme le polynucléotide (Loret, E.P., Georgel, P., Johnson, W.C., & Ho, P.S. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 9734-9738). Une étude préliminaire par RMN 2D du variant africain Tat.Z2 a montré que la région basique était à proximité de la région N-terminal. Toutefois le faible nombre de contraintes

RMN n'a pas permis de déterminer une structure 3D précise de Tat (Bayer, P., Kraft, M., Ejchart, A., Westendorp, M., Frank, R., & Rosh, P. (1995) J. Mol. Biol. 247, 529-535).

Une étude structurale par dichroïsme circulaire et modélisation  
5 moléculaire a permis de mettre en évidence l'existence de 6 groupes structuraux parmi les variants connus de la protéine Tat, et les variations structurales sont principalement localisées dans deux régions adjacentes à la région basique (Gregoire & Loret, J. Biol. Chem., 271 (1996), 22 641-22 646).

Une des conclusions importantes de cette étude a été de postuler que  
10 des changements conformationnels étaient essentiels à la protéine Tat pour son activité de transactivation. En effet, la région basique de Tat ne peut pas se retrouver insérée dans le sillon majeur de TAR dans sa conformation en solution. Les régions adjacentes à la région basique jouent probablement un rôle de régions "charnières" pour permettre cette insertion dans TAR.

15 Les tentatives de trouver un inhibiteur de la transactivation du VIH se sont jusqu'à présent heurtées à la forte affinité de l'interaction Tat/TAR, qui est nanomolaire. Depuis la fin des années 80, plusieurs équipes ont réussi à synthétiser des molécules se fixant sur TAR, mais ces molécules même dotées d'une affinité nanomolaire n'arrivent pas à être de véritables inhibiteurs  
20 compétitifs de Tat.

L'objet de la présente invention est de fournir des inhibiteurs allostériques de la protéine Tat. Ces molécules se fixent sur différentes régions de Tat. Cette fixation empêche les changements conformationnels essentiels à la protéine Tat pour son activité de transactivation.

25 Un premier avantage de cette approche est d'éviter les problèmes de l'inhibition compétitive avec TAR qui sont similaires à ceux de l'inhibition compétitive avec Tat. Un deuxième avantage est de permettre d'inhiber les autres fonctions de Tat aussi bien au niveau intra-cellulaire qu'extra-cellulaire.

La présente invention concerne l'utilisation d'un composé organique  
30 comprenant un cycle aromatique noté Ar substitué par au moins un substituant hydrocarboné noté A, ledit substituant hydrocarboné comportant:

- une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée notée  $-CH_2A'$  comprenant au moins un atome de carbone, et

- un substituant noté F<sub>a</sub> comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton susceptible d'engager une ou des liaisons hydrogène,
- pour provoquer l'inhibition allostérique de la protéine Tat.

5 Le composé selon l'invention relie de préférence la région basique et la région N-terminal de la protéine Tat, si bien que la structure de la protéine est rigidifiée, et son changement conformationnel, nécessaire pour interagir avec TAR, est inhibé.

Dans le cadre de la présente invention, on entend par "protéine Tat", un enchaînement d'acides aminés entraînant la transactivation des gènes du VIH et pouvant comporter des mutations.

Dans le cadre de la présente invention, la synthèse chimique complète en phase solide de six variants structuraux de Tat a été effectuée à partir d'isolats VIH-1 d'origines géographiques différentes (Afrique, Europe, Amérique du Nord) : Tat Z2 (86 résidus), Tat Mal (87 résidus), Tat Bru (86 résidus), Tat JR (101 résidus), Tat Oyi (101 résidus) et Tat Eli (99 résidus). Ces molécules ont des propriétés identiques aux protéines Tat "naturelles". Leur étude fonctionnelle permet de mettre en évidence un lien étroit entre la virulence du VIH et l'activité de la protéine Tat.

20 Dans le cadre de la présente invention, la "protéine Tat" regroupe notamment les variants Tat Z2, Tat Mal, Tat Bru, Tat JR, Tat Oyi et Tat Eli.

On entend par "hydrocarboné" un groupe d'atomes comportant un atome de carbone directement rattaché au reste de la molécule, et éventuellement un à plusieurs hétéroatomes insérés dans le squelette carboné.

Afin de tenir compte de l'hétérogénéité structurale de Tat, le substituant hydrocarboné A est suffisamment flexible pour s'adapter aux légères modifications structurales de Tat d'un variant à l'autre.

30 Le cycle aromatique Ar est un dérivé du toluène ou un hydrocarbure aromatique polycyclique condensé, choisi de préférence parmi le naphthalène, l'anthracène, le phénanthrène, le fluoranthène, l'acéanthrylène et le triphène.

Le cycle aromatique est de préférence le triphène.

Dans le cadre de la présente invention, une étude par RMN 2D hétéronucléaire (H et <sup>13</sup>C) a été effectuée sur Tat Bru. Une structure 3D de



Tat Bru respectant 950 contraintes RMN a pu être obtenue. Cette structure permet en particulier de visualiser le positionnement des chaînes latérales, et des modifications importantes dans l'enroulement du squelette peptidique par rapport à l'étude RMN 2D réalisée précédemment sur Tat Z2. Une particularité intéressante de la structure 3D de Tat Bru est la mise en évidence d'une "poche" hydrophobe accessible formée par le tryptophane n° 11 (Trp 11) et la phénylalanine n° 38 (Phe 38). Ces deux résidus sont conservés chez tous les variants Tat.

Selon un mode de réalisation préféré, le cycle aromatique du composé de l'invention interagit avec le tryptophane n° 11 (Trp 11) et la phénylalanine n° 38 (Phe 38) de Tat.

De façon avantageuse, le substituant  $F_a$  engage une ou des liaisons hydrogène avec la région basique et la région N-terminal de la protéine Tat.

La fonction donneur et la fonction accepteur de proton est choisie parmi toutes les fonctions donneurs et accepteurs de proton bien connues de l'homme du métier. On choisit par exemple la fonction alcool comme fonction donneur de proton, en particulier, une fonction alcool primaire ou alcool secondaire, et la fonction carbonyle comme fonction accepteur de proton.

La fonction donneur ou accepteur de proton du substituant  $F_a$  est avantageusement située à une distance comprise entre 5 et 10 Å du cycle aromatique, de préférence comprise entre 6 et 7 Å.

Le cycle aromatique est avantageusement tel que la chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée notée  $-CH_2A'$  comprend 1 à 8 atomes, parmi lesquels des atomes de carbone et éventuellement un ou deux hétéroatomes. On entend par hétéroatome, un atome autre que le carbone, par exemple N, P, O, S, Si ou Se.

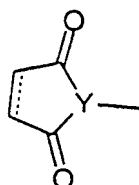
Selon un premier mode de mise en œuvre,  $-CH_2A'$  comprend un atome de carbone et  $F_a$  représente un hydroxyle, si bien que A représente  $-CH_2OH$ .

La chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée  $-CH_2A'$  comprend avantageusement 5 atomes de carbone.

Selon un deuxième mode de mise en œuvre, le substituant  $F_a$  situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique comprend au moins une fonction accepteur de proton, de préférence au moins deux, situées dans le plan du cycle aromatique ou du même côté du plan du cycle aromatique.

Une fonction accepteur de proton préférée est une fonction carbonyle.

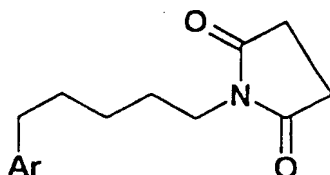
Le substituant  $F_a$  situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique répond avantageusement à la formule :



- 5 dans laquelle Y représente N ou CH et le trait pointillé représente une éventuelle double liaison. Dans ce cas,  $F_a$  est de préférence un maléimide ou un succinimide.

Un composé préféré est tel que le substituant  $F_a$  représente un maléimide ou un succinimide et  $-CH_2 A'$  comprend 5 atomes de carbone. Ce

- 10 composé a la formule suivante :



Dans cette formule le cycle aromatique Ar est de préférence le triphène.

Le composé de l'invention qui comprend un cycle aromatique Ar substitué par A peut comprendre en outre au moins un autre substituant noté

15 B ou C, ledit substituant pouvant comporter au moins un atome de carbone, et pouvant comporter un substituant noté  $F_b$  ou  $F_c$  comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton susceptible d'engager une ou des liaisons hydrogène avec la protéine Tat.

- Le cycle aromatique Ar comprend avantageusement outre le substituant
- 20 A, deux substituants B et C.

B ou C peut comporter au moins une fonction donneur ou accepteur, comme une fonction hydroxy.

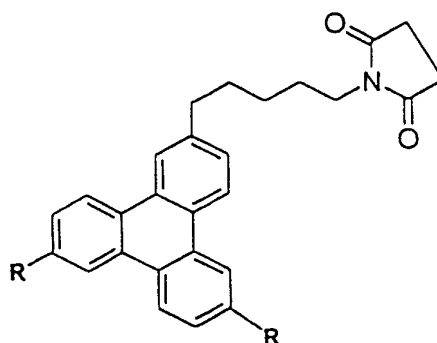
B ou C représente avantageusement un méthyle,  $-CH_2OH$  ou  $-COOH$ .

B ou C peut comporter deux fonctions donneur ou accepteur de proton situées

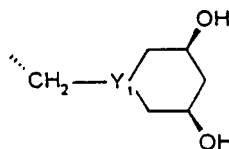
- dans le plan du cycle aromatique, ou
- du même côté du plan du cycle aromatique, pour que les fonctions interagissent efficacement avec Tat.

5

Le composé organique répond avantageusement à la formule :



dans laquelle R représente un hydrogène, un méthyle (composé note TDS1),  
 $\text{-CH}_2\text{OH}$  (composé noté TDS4), ou  
 le groupement de formule



10

dans laquelle Y1 représente N (composé noté TDS2), ou CH (composé noté TDS3).

La présente invention concerne également des nouveaux dérivés du triphène qui sont substitués par un substituant hydrocarboné A comportant  
 15 une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée et, à l'extrémité de cette chaîne un substituant comportant au moins une fonction dotée d'un doublet accepteur ou donneur de proton, à l'exception des dérivés du triphène substitués en position 2 par  $\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_2\text{-CH(OCH}_3\text{)}_2$  ou  $\text{-CH}_2\text{-NH-C(CH}_3\text{)(CH}_2\text{OH)}_2$ .

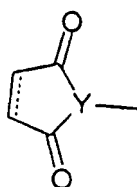
20

La chaîne linéaire non fonctionnalisée de ces dérivés triphène comporte de préférence jusqu'à 8 atomes.

Le substituant situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique linéaire peut comporter au moins deux fonctions dotées d'un doublet accepteur de proton, de préférence situées dans un même plan.

La fonction dotée d'un doublet accepteur de proton est  
5 avantageusement un carbonyle.

Le substituant situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique répond avantageusement à la formule :



dans laquelle Y représente N ou CH et le trait pointillé représente une éventuelle double liaison. Ce substituant représente de préférence un  
10 maléimide ou un succinimide.

La présente invention concerne également des nouveaux dérivés du triphène di- ou tri-substitués comportant un substituant hydrocarboné A décrit comme précédemment, et comportant au moins un deuxième substituant B ou C.

15 La chaîne aliphatique linéaire de A comprend jusqu'à 8 atomes, parmi lesquels des atomes de carbone et éventuellement un ou deux hétéroatomes, de préférence 5 atomes.

Le substituant situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique linéaire comporte au moins deux fonctions dotées d'un double accepteur de proton,  
20 de préférence dans le même plan.

La fonction dotée d'un double accepteur de proton est avantageusement un carbonyle.

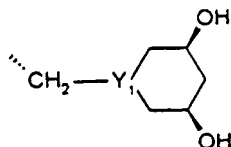
B et/ou C sont, l'un indépendamment de l'autre, des substituants aliphatiques comportant 1 à 4 atomes de carbone, par exemple un méthyle, et  
25 peuvent être dotés, l'un indépendamment de l'autre, d'au moins une fonction donneur ou accepteur de proton.

B et/ou C sont, l'un indépendamment de l'autre, dotés de deux fonctions donneur ou accepteur de proton de préférence disposées dans l'espace de telles sorte que les fonctions sont situées

- dans le plan du noyau triphène, ou
- du même côté du plan du noyau triphène.

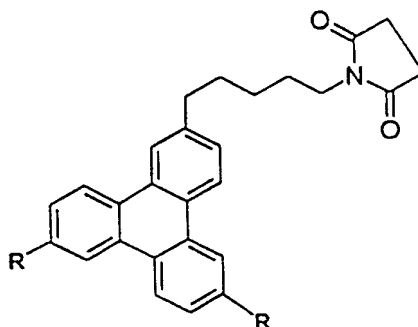
La présente invention concerne particulièrement des dérivés du triphène tri-substitués tels que B et C représentent un méthyle, un hydroxyméthyle ou

5 le groupement suivant :



Y1 étant un atome d'azote ou un groupement CH.

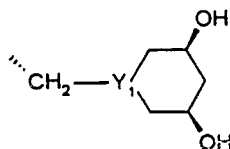
La présente invention couvre plus particulièrement les dérivés de formule



dans laquelle R représente un méthyle (composé noté TDS1),

10 -CH<sub>2</sub>OH (composé noté TDS4), ou

le groupement de formule



dans laquelle Y1 représente N (composé noté TDS2), ou CH (composé noté TDS3).

15 La présente invention concerne également le dérivé 2,6,10-trihydroxyméthyl-triphène et le dérivé 2,6,10-tricarboxy-triphène. Ces dérivés sont utiles comme intermédiaires de synthèse dans la préparation des composés décrits précédemment.

Dans les composés de l'invention, les substituants A, B et C sont de préférence respectivement en position ortho ou méta. On préférera les composés du type 2-A-6-B-10-C-triphène, afin de minimiser les éventuelles interactions entre A, B et C.

5 La présente invention a également pour objet un procédé de préparation des composés décrits précédemment, en particulier les composés aromatiques tri-substitués par les groupements A, B et C notés Ar(ABC), et les composés aromatiques mono-substitués par A notés ArA.

10 La présente invention concerne plus particulièrement le procédé de préparation des composés aromatiques Ar(ABC) et ArA, pour lesquels A (noté  $\text{CH}_2\text{-A}'\text{F}_a$ ) comporte une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée ( $\text{CH}_2\text{-A}'$ ), substituée à son extrémité par un groupement doté d'au moins une fonction accepteur ou donneur de proton ( $\text{F}_a$ ).

15 Le procédé de préparation des composés Ar(ABC) utilise de préférence comme produit intermédiaire un dérivé de formule  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{Z)}_2$  dans laquelle  $\text{-CH}_2\text{A}'$  est défini comme précédemment,  $\text{P}_a$  représente un groupement protecteur hydrolysable et Z représente un hydrogène, un halogène ou une fonction alcool protégée.

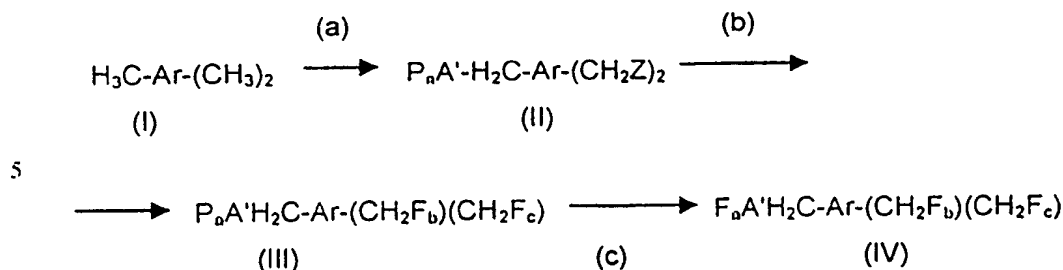
Z est de préférence un brome ou un groupement trialkylsilyloxy.

20 Le procédé de l'invention utilise de préférence comme produit de départ  $\text{Ar(CH}_3)_3$ .

Afin de respecter la réactivité des substituants A, B et C, et d'éviter leur dégradation au cours de la synthèse, le procédé selon l'invention comprend, de préférence, les étapes successives suivantes :

- 25 (a) fixation de la chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée  $\text{-CH}_2\text{A}'$ ,  
(b) éventuelle fixation des substituants B et C, et  
(c) fixation d'un substituant comportant au moins une fonction accepteur ou donneur de proton  $\text{F}_a$ , sur la chaîne non  
30 fonctionnalisée  $\text{-CH}_2\text{A}'$ .

Selon un premier mode de réalisation de préparation des composés Ar(ABC) tels que B et C ne représentent pas des hydrogènes, le procédé peut être schématisé comme suit



10  $\text{F}_a, \text{F}_b, \text{F}_c$  représentant des substituants comportant au moins une fonction accepteur ou donneur de proton

Le dérivé  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{Z)}_2$  (II) est avantageusement obtenu par synthèse magnésienne, en utilisant le composé de formule  $\text{P}_a\text{A}'\text{-MgX}^1$ , dans laquelle  $\text{X}^1$  est un atome d'halogène.  $\text{P}_a\text{A}'\text{-MgX}^1$  est par exemple  $\text{BnO-(CH}_2)_n\text{-MgBr}$ ,  $n$  étant supérieur à 1, et Bn représentant un benzyle.

15 Les composés  $\text{Ar(ABC)}$  tels que B et C représentent Me sont obtenus à partir de  $\text{Ar(Me)}_3$  en réalisant les étapes (a) et (c). Dans ce cas,  $\text{Z=H}$ . L'étape (a) consiste à casser la symétrie du produit de départ en réalisant une monohalogénéation de  $\text{Ar(Me)}_3$  pour obtenir  $(\text{X}^2\text{-H}_2\text{C})\text{-Ar-(Me)}_2$ ,  $\text{X}^2$  représentant un halogène. La monohalogénéation est réalisée par exemple avec le N-bromosuccinimide par catalyse avec AIBN.

20 On greffe ensuite la chaîne A' sur  $(\text{X}^2\text{-H}_2\text{C})\text{-Ar-(Me)}_2$  par synthèse magnésienne comme décrit précédemment pour obtenir  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(Me)}_2$ . L'étape (c) consiste à transformer  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(Me)}_2$  en  $\text{F}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(Me)}_2$ ,  $\text{F}_a$  représentant le groupement doté d'au moins une fonction accepteur ou

25 accepteur de proton.

Si l'on souhaite préparer un composé  $\text{Ar(ABC)}$  tels que les groupements B et C comprennent chacun au moins une fonction accepteur ou donneur de proton ( $\text{F}_b$  et  $\text{F}_c$ ), on distinguera plusieurs cas selon que les liaisons engagées par  $\text{F}_b$  et  $\text{F}_c$  avec  $\text{A-Ar-(CH}_2)_2$  sont des liaisons carbone-carbone, carbone-azote ou carbone-oxygène.

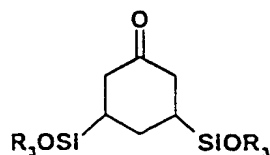
30 Lorsque les liaisons entre  $\text{F}_b, \text{F}_c$  et  $\text{A-Ar-(CH}_2)_2$  sont des liaisons carbone-carbone, l'intermédiaire  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{Z)}_2$  (II) est tel que Z représente une fonction alcool protégée ou un halogène.

Au cours de l'étape (b),  $F_b$  et  $F_c$  peuvent être greffés suivant une réaction de Wittig de deux façons :

- un ylure issu de  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  (II) lorsque Z représente un halogène est mis à réagir avec une cétone comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton  $F_b$  et/ou  $F_c$ , ou
- un aldéhyde obtenu par oxydation de  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$ , lorsque Z représente une fonction alcool protégée, est mis en présence de précurseurs ylures de  $F_b$  et  $F_c$ .

L'ylure est obtenu à partir de  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  lorsque Z représente un halogène, directement ou en passant par  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2SO_2Ph)_2$  (réaction de Julia).

Par exemple, le composé  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Br)_2$  est mis à réagir avec  $PPh_3$  dans le DMF, puis on ajoute  $nBuLi$  pour obtenir le  $P_aA'-H_2C-Ar-(Ph_3P=CH_2)_2$ . On ajoute ensuite la cétone dans le THF, par exemple de

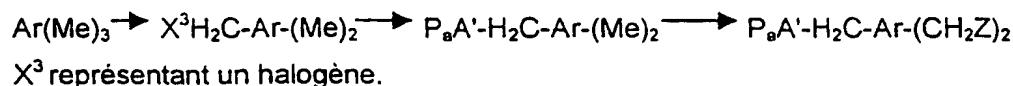


dans laquelle R représente un substituant alkyle.

Cette cétone peut-être obtenue à partir du 1,3,5-cyclohexanetriol, que l'on traite avec 2 équivalents de  $tBuMe_2SiCl$  dans  $CH_2Cl_2$  en présence d'imidazole, puis par une oxydation avec le réactif de Dess-Martin.

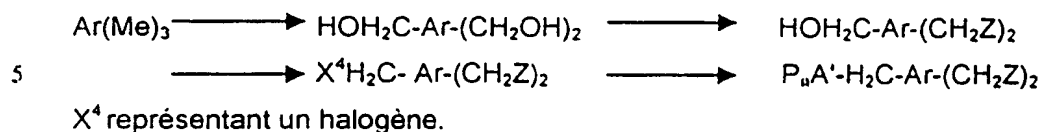
Lorsque les liaisons entre  $F_b$ ,  $F_c$  et  $A-Ar-(CH_2)_2$  sont des liaisons carbone-azote, l'intermédiaire  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  (II) est tel que Z représente un halogène ou une fonction alcool protégée. Deux voies de synthèse de cet intermédiaire sont possibles.

Selon un premier mode de mise en œuvre, Z représente un halogène et le procédé comporte les étapes suivantes :





Selon un deuxième mode de mise en œuvre, Z représente une fonction alcool protégé, et le procédé comprend les étapes suivantes :



Selon ce deuxième mode de mise en œuvre, les fonctions alcools peuvent être déprotégées puis soumises à une source d'halogénure pour obtenir  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{Z)}_2$  dans lequel Z représente un halogène.

$\text{HOH}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{OH)}_2$  peut être préparé de deux façons différentes. Le 2,6,10-trihydroxyméthyl-triphène peut être obtenu selon deux voies. Selon une première variante, le 2,6,10-triméthyltriphène est tribromé, par exemple par le N-bromo-succinimide, puis hydrolysé en milieu basique. Selon une deuxième variante, le 2,6,10-triméthyltriphène est mis en présence d'un oxydant, par exemple  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , et le dérivé 2,6,10-tricarboxy-triphène obtenu est réduit, par exemple par  $\text{AlLiH}_4$ .

Le composé  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{Z)}_2$  tel que Z représente un halogène, est ensuite mis à réagir, de façon classique, avec un composé du type amine secondaire comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton  $\text{F}_b$  et/ou  $\text{F}_c$  ; cette réaction qui suit un mécanisme de substitution nucléophile est avantageusement réalisée en présence d'une base, comme TEA. Par exemple, on choisit comme amine, la 2,4-dihydroxy-cyclohexamine.

Lorsque les liaisons engagées  $\text{F}_b$  et  $\text{F}_c$  avec  $\text{A-Ar-(CH}_2\text{-)}_2$  sont des liaisons carbone-oxygène, l'intermédiaire  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{Z)}_2$  est tel que Z représente une fonction alcool protégé. L'intermédiaire est alors obtenu selon le schéma présenté précédemment.

Dans le cas où B et C représentent  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{F}_b$  et  $\text{F}_c$  représentent OH et l'étape (b) consiste à déprotéger la fonction alcool de  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar-(CH}_2\text{Z)}_2$ .

Lorsque  $\text{F}_a$  représente un maléimide ou un succinimide, l'étape (c) suit les conditions de la réaction de Mitsunobu.

Par exemple,  $\text{BnO-(CH}_2\text{)}_n\text{-Ar-(Me)}_2$ , n étant défini comme précédemment, est déprotégé par hydrogénolyse du groupement benzyle, notamment en le dissolvant dans un mélange méthanol/toluène et en le

faisant réagir pendant 24 heures sous une atmosphère de  $H_2$  en présence de Pd/C 10 %.  $HO-(CH_2)_n-Ar-(Me)_2$  est ensuite mis à réagir, par exemple, avec le N-bromo-succinimide ou le N-bromo-maléimide, en présence de triphénylphosphine ( $PPh_3$ ) et de DEAD, dans le THF, à température ambiante pendant  
5 12 heures.

La présente invention concerne en particulier un procédé de préparation de composés aromatiques comportant un noyau triphène.

Selon un mode de réalisation simple à mettre en œuvre, le procédé utilise le triméthyltriphène, de préférence le 2,6,10-triméthyltriphène, comme  
10 produit de départ.

La présente invention concerne également un procédé de préparation des composés  $ArA$  tels que  $A$  représente une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée substituée à son extrémité par un groupement doté d'au moins une fonction accepteur ou accepteur de proton.

15 Ces composés peuvent être obtenus par une réaction de Friedel et Craft. Le procédé de l'invention utilise avantageusement comme précurseur  $Ar-A'CH_2OH$ .

Selon une autre méthode  $ArH$  est monohalogéné puis transformé en un intermédiaire du type  $ArA'CH_2CN$ .

20 La présente invention concerne également les composés décrits précédemment susceptibles d'être obtenus par le procédé décrit précédemment pour leur application en tant que substances thérapeutiquement actives, en particulier comme agents anti-rétroviraux pour le traitement ou la prévention des infections dues à un rétrovirus, par exemple  
25 le VIH.

La présente invention a pour objet les préparations pharmaceutiques contenant un composé de l'invention susceptible d'être obtenu par le procédé décrit précédemment et contenant un excipient pharmaceutiquement inerte.

30 La présente invention a enfin pour objet les préparations pharmaceutiques contenant un mélange d'un composé de l'invention, et d'un autre agent antirétroviral, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, dans une thérapie anti-rétrovirale.

La présente invention sera illustrée de façon non limitative par les exemples suivants en référence aux figures 1 à 7.

La figure 1 représente les profils HPLC de TDS1, de Tat Bru, de Tat Oyi et des mélanges TDS1/ Tat Bru et TDS1/ Tat Oyi.

5 La figure 1A représente le profil HPLC de TDS1 à une concentration de 0,1 mM.

La figure 1B représente le profil HPLC de la protéine Tat Bru à une concentration de 0,1 mM.

La figure 1C représente le profil HPLC du mélange TDS1 avec Tat Bru.

10 La figure 1D représente le profil HPLC du brut de synthèse de Tat Oyi.

La figure 1E représente le profil HPLC du mélange du brut de synthèse de Tat Oyi avec 0,1 mM de TDS1.

La figure 1F représente le profil HPLC du mélange du brut de synthèse de Tat Oyi avec 1 mM de TDS1.

15 Les figures 2A, 2B et 2C représentent les spectres de masse de trois fractions collectées après HPLC à partir du brut de synthèse de Tat Oyi. La figure 2B correspond au spectre de masse du pic majeur présent dans la figure 1D, mais qui a disparu dans les figures 1E et 1F.

La figure 3A représente l'activité LTR-Lac Z de cellules humaines  
20 infestées avec le LTR du VIH-1 et un gène rapporteur *LacZ* codant pour la bêta-Galactosidase en présence de Tat Bru et TDS1.

La figure 3B montre les résultats d'une expérience similaire à celle présentée figure 3A où le gène rapporteur est remplacé par *luc*, codant pour la luciférase

25 La figure 4A représente la survie de cellules MT4 en présence de VIH-1 III B en fonction de la concentration en TDS 1, de la concentration en AZT et de la concentration en ddC.

La figure 4B représente l'activité de la transcriptase inverse à température ambiante en présence de VIH-1 III B en fonction de la  
30 concentration en TDS 1 et de la concentration en AZT.

La figure 5A représente les profils d'électrophorèse de TAR, du complexe Tat Bru/TAR, et du mélange Tat/TAR/TDS1 après avoir incubé la protéine Tat Bru avec TDS 1 pendant 30 minutes avant l'ajout de TAR.

La figure 5B représente les profils d'électrophorèse de TAR, du complexe Tat Bru/TAR, et du mélange Tat/TAR/TDS1 après avoir incubé la protéine Tat Bru avec TAR avant l'ajout de TDS1.

La figure 6A représente les profils d'électrophorèse de TAR, du  
5 complexe Tat Mal/TAR, et du mélange Tat/TAR/TDS1 après avoir incubé la protéine Tat Mal avec TDS 1 pendant 30 minutes avant l'ajout de TAR.

La figure 6B représente les profils d'électrophorèse de TAR, du complexe Tat Mal/TAR, et du mélange Tat/TAR/TDS1 après avoir incubé la protéine Tat Mal avec TAR avant l'ajout de TDS1.

10 La figure 7 représente les spectres de fluorescence de Tat Eli (courbe 1), du complexe Tat Eli/TDS1 (courbe 2), et de TDS1 (courbe 3), après excitation à 295 nm.

#### Exemple 1 : préparation et activité de TDS1

15

##### A) PREPARATION

- 2,6,10-triméthyltriphène

20 Le 2,6,10-triméthyltriphène est obtenu à partir de la méthyl-4-cyclohexanone selon le mode de préparation décrit par SHIRAI et al. dans J. Org. Chem., 56 (1991), 2253-2258.

25 La méthyl-4-cyclohexanone est mise à réagir à 180-200°C en présence d'une quantité catalytique de  $\text{ZnCl}_4$  pour subir une autocondensation. Le composé quadricyclique intermédiaire obtenue est ensuite déshydrogéné à 300°C sur charbon/Palladium. Le 2,6,10-triméthyltriphène est obtenu avec un rendement d'environ 40 %.

- 30 • 2-Bromo-4,6-diméthyltriphène :

A une solution de 2,4,6-triméthyltriphène (2,8 g; 10 mmol) en solution dans du  $\text{CCl}_4$  (400 ml) sec et dégazé sous azote, est ajouté de la N-bromosuccinimide (1,96 g; 11 mmol) et une quantité catalytique d'AIBN. La

suspension est portée à reflux pendant 2 à 3 heures. Le solvant est éliminé sous vide et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un gradient pentane/acétate d'éthyle pour conduire à 1,7 g de dérivé monobromé (50%).

5

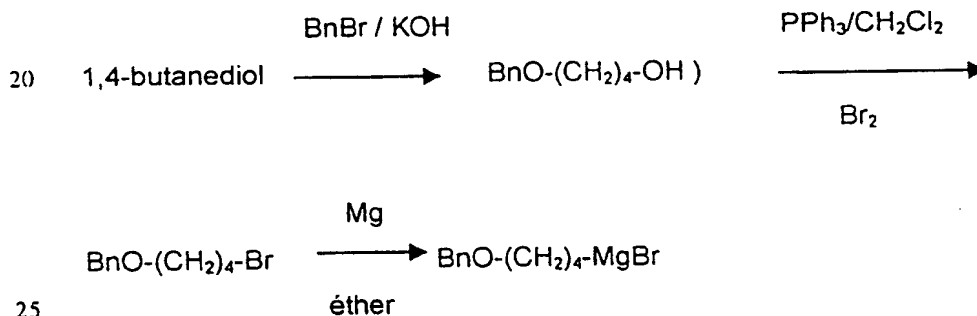
RMN (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 2,58 (s, Me, 6H); 4,70 (s,  $\text{CH}_2\text{Br}$ , 2H); 7,5-8,5 (massif, arom., 9H).

SM : 347 (M-H, 100); 268 (M-H-Br, 95).

10 • 2-(5-hydroxy-pentyl)-4,6-diméthyltriphène

A une solution de 2-bromo-4,6-diméthyltriphène (0,9 g; 2,6 mmol) en solution dans du THF sec sous azote à  $-78^\circ\text{C}$  est ajoutée une quantité catalytique d'une solution 1N de  $\text{CuLiBr}_2$  (environ 1ml), suivit de l'addition  
15 lente (environ 1 heure) d'une solution 1,4 N de  $\text{BnO}-(\text{CH}_2)_4\text{-MgBr}$  (9 ml, 6,4 mmol).

$\text{BnO}-(\text{CH}_2)_4\text{-MgBr}$  est préparé selon le schéma suivant :



Après la fin de l'addition, le mélange réactionnel est abandonné à température ambiante une nuit.

Après traitement classique de la réaction, le mélange brut est dissout  
30 dans un mélange toluène/méthanol, et on ajoute une quantité catalytique de Pd/C 10%. Cette suspension est hydrogénée sous une atmosphère d' $\text{H}_2$  pendant un jour. Le catalyseur est filtré et la solution est concentrée. Le mélange brut est purifié par chromatographie sur gel de silice en éluant avec

un gradient pentane/acétate d'éthyle pour conduire à 0,38 g de 2-(5-hydroxy-pentyl)-4,6-diméthyltriphène (rendement de 43%).

RMN (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 1,4-1,8 (massif,  $\text{CH}_2$ , 4H); 2,59 (s, Me, 6H);  
5 2,87 (t, Ar- $\text{CH}_2$ , 2H); 3,66 (t, O- $\text{CH}_2$ , 2H); 7,5-8,5 (massif, arom., 9H).

• TDS 1 :

A une solution du 2-(5-hydroxy-pentyl)-4,6-diméthyltriphène précédent  
10 (0,28 g ; 0,82 mmol) en solution dans du THF sec (20 ml) sous azote, est  
ajouté de la N-succinimide (0,1 g ; 1,0 mmol), du diéthylazodicarboxylate  
(DEAD) (0,15 ml ; 1,0 mmol) et de la triphénylphosphine ( $\text{PPh}_3$ ) (0,270 g ; 1,0  
mmol). La solution est agitée sous azote une nuit à température ambiante.  
Après traitement classique de la réaction, le solvant est éliminé et le mélange  
15 brut est purifié par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un  
gradient pentane/acétate d'éthyle pour conduire à 0,2 g de TDS1 (50 %).

RMN (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) : 1,4-1,8 (massif,  $\text{CH}_2$ , 4H) ; 2,59 et 2,55 (s, Me,  
et CH, -10H) ; 2,83 (t, Ar- $\text{CH}_2$ , 2H) ; 3,54 (t, N- $\text{CH}_2$ , 2H) ; 7,5-8,5 (massif,  
20 arom., 9H).

SM : 423 (M, 80) ; 269 (2,4,6-triméthyltriphène-H, 100).

B) ACTIVITE DE TDS1 in vitro

25 a) Essais d'interaction entre Tat Bru et TDS1, et Tat Oyi et TDS1 réalisés par  
HPLC.

Conditions expérimentales : colonne C8, gradient 20 à 60 %, tampon B  
( $\text{CH}_3\text{CN}$  + 0,1 %TFA) en 40 min, tampon A ( $\text{H}_2\text{O}$  + 0,1 % TFA). L'absorbance  
30 est mesurée à 215 nm.

Les figures 1A, 1B et 1C représentent respectivement le profil HPLC de  
TDS1 (0,1 mM), Tat Bru (0,1 mM) et du mélange TDS1 avec Tat Bru.  
Ces essais montrent que TDS1 entraîne la précipitation de Tat Bru dans des  
concentrations micromolaires (figures 1A, 1B et 1C).

Une affinité au moins similaire est observée avec le brut de synthèse Tat Oyi (101 résidus) (figures 1D, 1E et 1F). Le pic principal du brut de synthèse de Tat Oyi possédant des délétions plus ou moins importantes de la région N-terminal qui élue à 16 min (figure 1 D) disparaît entièrement quand  
5 on ajoute TDS1 à une concentration de 1 mM (figure 1 E) et de 10 mM (figure 1F).

Ces résultats montrent donc la spécificité du TDS1 pour Tat Oyi puisque seul le pic principal est modifié par le TDS1, alors que les dérivés ayant des délétions ou ceux ayant des groupements protecteurs ne sont pas touchés  
10 (figure 1E et F).

Les résultats présentés figure 1 montrent que TDS1 se fixe directement sur Tat Oyi. Les expériences en présence du brut de synthèse montrent que TDS1 se fixe sur Tat Oyi mais pas sur des dérivés de Tat Oyi ayant une partie plus ou moins grande de l'extrémité N-terminal manquante. Même en  
15 présence d'une forte concentration de TDS1 (10 mM), la fixation de la molécule est toujours spécifique de Tat Oyi entière. Sa spécificité devrait permettre d'éviter des effets secondaires indésirables.

De plus cette expérience confirme que la région N-terminal de Tat est impliquée dans le site de fixation.

20

b) Isolation Tat Oyi (PM 11561) par HPLC.

La figure 2 montre les spectres de masse de trois fractions collectées après HPLC à partir du brut de synthèse de Tat Oyi. La première fraction  
25 correspond aux petits pics observés avant le pic majeur, et représente des variants de Tat Oyi contenant Tat mélangée à des variants possédant des délétions plus ou moins importants de la région N-terminal (figure 2A). La deuxième fraction correspond au pic majeur, qui est donc identifiée comme Tat Oyi puisque le PM observé de 11565 D correspond à celui attendu pour la  
30 protéine entière (figure 2B). La troisième fraction correspond aux petits pics observés après le pic majeur, et représente des dérivés de Tat Oyi avec des groupements protecteurs fixés à des chaînes latérales mélangées avec Tat Oyi (figure 2C).

c) Inhibition de la transactivation avec des cellules humaines HeLa transfectées avec le LTR du VIH-1 et un gène rapporteur de la protéine bêta-Galactosidase (Lac Z) ou luciférase.

5            Dans un milieu de culture de cellules, on ajoute 100  $\mu$ l de TDS1 puis 100  $\mu$ l du variant Tat Bru ou du variant Tat Mal.

          La transactivation fonctionnelle par la protéine synthétique Tat est évalué en utilisant des cellules HeLa-CD4 qui portent un gène bactérien *lac Z* (ou *luc*) sous le contrôle du LTR du VIH. L'accumulation cytoplasmique de  
10    bêta-Galactosidase (ou de luciférase) dépend de la présence de Tat. L'inhibition de la transactivation a pu être reproduite dans huit expériences indépendantes avec deux variants différents: Tat Bru (figure 3A) et Tat Mal (figure 3B). Des résultats similaires ont été obtenus avec le variant Tat Eli (résultats non montrés).

15           Ces essais montrent que TDS1 inhibe la transactivation du VIH-1. L'effet dose observé dans le figure 3A indique que TDS1 agit directement sur Tat et non pas sur un cofacteur cellulaire qui serait nécessaire à la transactivation.

          Le fait que TDS1 se fixe aussi bien sur Tat Bru, Tat Mal que Tat Eli  
20    confirme la présence d'un site spécifique conservé dans les variants de Tat.

          L'effet moyen d'inhibition de la transactivation ( $IT_{50}$ ) est de 0,2  $\mu$ M pour Tat Mal (figure 3B). Cette valeur est du même ordre pour les autres variants.

25           d) Survie des cellules MT4 et activité de la transcriptase inverse (figures 4A et 4B) en présence de VIH-1 IIIB.

          Lors des deux séries d'expériences, TDS1 montre qu'il peut inhiber la cytotoxicité du VIH-1 sur cellules MT4 avec un effet moyen ( $IC_{50}$ ) autour de 30  $\mu$ M. L'AZT et le ddC sont respectivement 1000 fois et 100 fois plus actifs que  
30    TDS1 dans ce type de test. Toutefois, le fait d'avoir observé un effet inhibiteur de la reverse transcriptase avec TDS1 est remarquable pour une molécule se fixant de manière spécifique sur Tat. Par exemple, l'AZT et le ddC n'ont strictement aucun effet dans le test de transactivation. La différence entre  $IT_{50}$  sur cellules HeLa et  $IC_{50}$  sur MT4 s'explique également par le fait que les



- MT4, modifiées par un autre virus que le VIH-1 pour pouvoir être maintenues en culture, sont capables d'exprimer un analogue de Tat appelé Tax. La différence d'activité entre les deux types cellulaires montre bien la spécificité de l'inhibition pour Tat. Un fait important que révèlent ces expériences est que
- 5 TDS1 est capable de traverser les membranes. L'effet inhibiteur de TDS1 ne peut pas s'expliquer autrement.

e) Inhibition de l'interaction Tat-TAR par TDS1

- 10 La séquence ARN de TAR de 59 nucléotides est préparée in vitro par transcription avec l'ARN polymérase T3. On prépare également 20 µl d'un mélange contenant 0,2 nmol de TAR radiomarké, 0 à 100 ng de Tat et une solution tampon (50 mM Tris pH 7,4, 20 mM KCl, 0,1 % Triton X-100).

- 15 Les complexes sont séparés par électrophorèse sur un gel polyacrylamide 8 % contenant 0, 1 % de Triton X-100. L'électrophorèse dure 90 minutes à 200 V. Les quantités relatives de ARN libre ou lié sont déterminées par phosphore imaging.

Les résultats sont présentés figure 5 et figure 6.

- 20 Ces expériences montrent que TDS1 est capable d'inhiber l'interaction Tat-TAR bien que l'affinité ( $K_a$ ) de Tat pour TAR (nM) soit supérieure à l'affinité de Tat pour TDS1 (µM). Cette expérience montre l'intérêt de l'inhibition allostérique car le  $K_d$  de TDS1 (100 pM) permet d'empêcher l'interaction Tat/TAR.

- 25 f) Interaction de TDS1 avec le tryptophane n°11 de Tat Eli observée par fluorescence

- Le spectre de fluorescence présenté en figure 7 montre un transfert d'énergie entre le noyau triphène de TDS1 et le noyau aromatique du tryptophane n°11 (Trp 11) de Tat Eli.
- 30

Le principe de la méthode consiste à exciter à une même longueur d'onde (295 nm) Tat Eli, le complexe Tat Eli/TDS1, et TDS1. On observe la fluorescence de ces trois composés de 340 à 450 nm.

L'observation des trois courbes Tat Eli (courbe 1), complexe Tat Eli/TDS1 (courbe 2), TDS1 (courbe 3) montre que la fluorescence du complexe Tat Eli/TDS1 ne correspond pas à la superposition des courbes de Tat Eli et TDS1. En particulier, la forte bande observée à 365 nm témoigne d'un effet exciton entre le noyau aromatique du Trp 11 de Tat Eli, et celui du triphène de TDS1. Cet effet exciton ne peut s'expliquer que par le positionnement parallèle des deux noyaux à une distance approximative de 0,2 +/- 0,05 nm.

Des dilutions successives du complexe Tat Eli/TDS1 montrent que le complexe est encore stable à 1 nanomole/litre et que les molécules sont complètement séparées à une concentration de 10 picomoles/litre. La constante de dissociation ( $K_d$ ) du complexe est estimée autour de 100 picomoles/litre.

Ces expériences montrent que lorsque le complexe Tat Eli/TDS1 est formé, la réaction est presque irréversible, ce qui explique pourquoi TDS1 est capable d'empêcher la formation du complexe Tat Eli/TAR ( $K_d$  = 50 nanomoles/litre).

En outre, la modélisation de l'interaction entre Tat Bru et TDS1, utilisant une structure RMN 2D respectant 950 contraintes RMN, indique que le noyau triphène de TDS1 vient probablement se positionner entre le noyau aromatique de Trp 11 et celui de Phe 38 de Tat Eli. Cette interaction est très forte et similaire à celle observée entre les bases nucléotidiques (phénomène de "stacking" des noyaux pyrimidiques et purines dans les acides nucléiques). Le positionnement en "sandwich" du noyau triphène permet de supposer que les deux donneurs de protons interagissant avec le noyau maléimide, sont les NH de la liaison peptidique de Arg 7 et Arg 52.

#### g) Etude de toxicité chez le rat.

Des doses mM de TDS1 ont été injectées en sous cutané chez de jeunes rats. Aucune toxicité n'a été observée lors de l'injection et depuis six mois les animaux ont une croissance normale. Le choix de jeunes rats lors de l'injection permet de détecter plus facilement des effets mutagènes. Aucune tumeur n'a été observée jusqu'à présent. En co-culture avec des lignées de

cellulaires humaines, une toxicité commence à être détectée à partir de 100  $\mu\text{M}$  de TDS1. Cette toxicité pourrait être liée au solvant hydrophobe.

### Exemple 2 : Préparation de TDS2

5

- 2,6,10-tri(hydroxyméthyl)-triphène (2)

On prépare le 2,6,10-triméthyltriphène (1) comme dans l'exemple 1.

Selon une première variante, on ajoute le 2,6,10-triméthyltriphène (1) à  
10 3,3 équivalents de N-bromo-succinimide (NBS) dans  $\text{CCl}_4$ , à reflux pendant 2 à 3 heures, en présence d'une quantité catalytique de AIBN. Le dérivé tribromé est ensuite hydrolysé en milieu basique par action de KOH, dans un mélange MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$ , à température ambiante pendant 24 heures. On obtient le 2,6,10-tri(hydroxyméthyl)-triphène avec un rendement de 50 %.

15 Selon une deuxième variante, le 2,6,10-triméthyltriphène (1) est mis en présence de 3,3 équivalents de  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en milieu aqueux, à  $250^\circ\text{C}$ , sous pression, pendant 13 heures. Le triacide obtenu est ensuite réduit par  $\text{AlLiH}_4$ , dans le THF, à  $0^\circ\text{C}$ , pendant 2 heures. Le rendement est de 80%.

20

- 2-bromométhyl-6,10-di(tert-butyl-diméthyl-silyloxy)-triphène (2bis).

Le 2,6,10-tri(hydroxyméthyl)-triphène (318 mg ; 1 mmol) est mis à réagir avec 2 équivalents de chlorure de tert-butyl-di-méthyl-silyle (TBSCl) (0,3 g ; 0,2 mmol) dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en présence d'imidazole (0,17 g ; 2,5 mmol).

25 Le dérivé obtenu est bromé par action de  $\text{Br}_2$  dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en présence de  $\text{PPh}_3$  (rendement 50 %)

- 2-(5-benzyloxy-pentyl)-6,10-di(hydroxyméthyl)-triphène (3).

30 Le dérivé bromé obtenu précédemment et  $\text{CuLiBr}_2$  sont dissous dans le THF. Le mélange est refroidi à  $-78^\circ\text{C}$  puis mis à réagir avec  $\text{BnO}-(\text{CH}_2)_4\text{-MgBn}$ .

Les groupes protecteurs tert-butyl-diméthyl-silyles sont hydrolysés par  $n\text{Bu}_4\text{NF}$  dans le THF.

- TDS2

Le dérivé dihydroxylé (3) est traité par  $\text{Br}_2$  dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en présence de  $\text{PPh}_3$ . Le dérivé dibromé (4) correspondant obtenu est ensuite mis à réagir avec l'aminodiol (5) dans le DMF en présence de  $\text{Et}_3\text{N}$ .

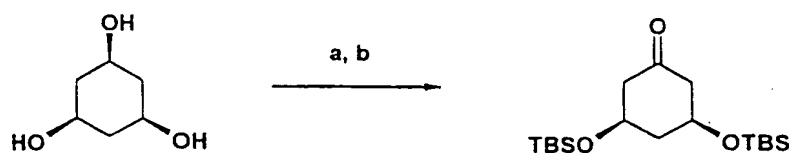
L'hydrogénolyse du groupement benzyle et l'hydrogénation des deux doubles liaisons sont effectuées au cours de la même étape. Les alcools déprotégés dirigent l'hydrogénation de la double liaison si bien que la stéréochimie désirée est obtenue.

Le dérivé (7) peut également être obtenu selon une autre méthode : en oxydant les deux fonctions alcools du dérivé (3) de l'exemple 2 en aldéhyde puis en faisant réagir l'aldéhyde avec la 3,5-di(OTBS)-cyclohexanone.

15 Exemple 3 : Préparation de TDS3

Le dérivé dibromé (4) obtenu selon l'exemple 2 est mis en présence de  $\text{PPh}_3$  dans le DMF, on ajoute  $n\text{BuLi}$  pour former un ylure, puis la cétone (6).

La cétone (6) est préparée selon le schéma suivant, à partir de l'hexane-triol:



a) 2 équivalents TBSCl, Imidazole,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  b) Oxydation de Swern.

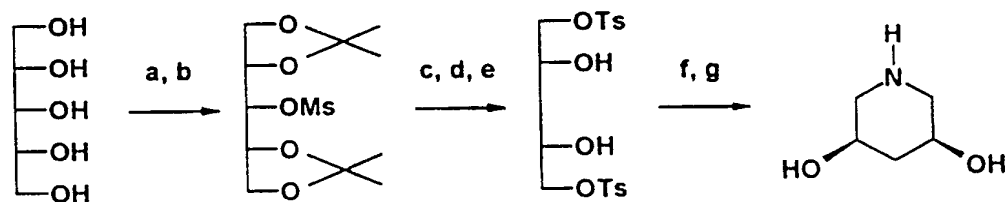
Le dérivé obtenu par la réaction de Wittig précédente (7) est ensuite traité par  $\text{NBu}_4\text{NF}$  dans le THF pour déprotéger les deux fonctions alcools. L'hydrogénolyse du groupement benzyle puis l'action du NBS sont réalisés dans les mêmes conditions que dans l'exemple 2.

**Exemple 4 : Préparation de TDS4**

Le dérivé 2-bromométhyl-6,10-di(tert-butyl-diméthyl-silyloxy)-triphène  
 5 (2bis) est préparé comme dans l'exemple 2, puis dissous dans le THF avec  $\text{CuLiBr}_2$ . Le mélange est refroidi à  $-78^\circ\text{C}$  puis mis à réagir avec  $\text{BnO}-(\text{CH}_2)_4\text{-MgBr}$ . Le groupe benzyle est hydrogénolysé dans les mêmes conditions que celles de l'exemple 2, puis le groupe succinimido est greffé sur la chaîne pentyle dans les mêmes conditions que celles de l'exemple 1.

10 Dans une dernière étape, les groupes protecteurs tert-butyl-diméthyl-silyle sont hydrolysés avec  $n\text{Bu}_4\text{NF}$  dans le THF.

L'aminodiol (5) est obtenu à partir de l'adonitol  $\text{HO-CH}_2-(\text{CHOH})_3\text{-CH}_2\text{OH}$  selon le schéma suivant :



15 a) acétone, catalyse TsOH b) chlorure de méthane sufonyle ( $\text{MsCl}$ ),  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , c)  $\text{LiAlH}_4$ , THF d) catalyse TsOH, MeOH e) chlorure de p-toluène-sulfonyle ( $\text{TsCl}$ ), Pyridine,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  f) benzamide ( $\text{BnNH}_2$ ), Dioxane, reflux g) 1 Atm,  $\text{H}_2$ , Pd/C 10 %, MeOH.

20 Le groupement benzyle est hydrogénolysé pour libérer la fonction alcool primaire, par action du dihydrogène (1atm.) sur catalyseur Pd/C 10 %, dans un mélange MeOH/toluène.

25 Enfin, le groupement succinimido est greffé sur la chaîne pentyle par action du NBS dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1.

Exemple 5 : Deux voies de préparation de dérivés aromatiques substitués par une chaîne 5-succinimido-pentyle

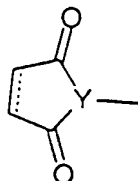
- 5 a) Un dérivé aromatique ArH tel que le toluène, l'anthracène ou le triphène est mis à réagir avec l'anhydride glutarique, dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , à  $0^\circ\text{C}$ , en présence de  $\text{AlCl}_3$ . Le toluène est substitué en position 4, l'anthracène en position 9, et le triphène en position 2. Le carbone benzylique est réduit pour obtenir  $\text{Ar}-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$  par action de  $\text{Zn}(\text{HgCl}_2)$ , pendant 48 heures à reflux dans un mélange toluène/eau/HCl concentré.
- 10 L'acide carboxylique est réduit en alcool par  $\text{AlLiH}_4$  dans l'éther à  $0^\circ\text{C}$  pendant 2 heures, puis on greffe le groupement succinimido dans les conditions de l'exemple 1.
- 15 b) Le triphène est bromé en position 2 selon la méthode de Barker et al. (J. Chem. Soc., 1955, 4482-4485). Le dérivé bromé est ensuite mis à réagir avec  $\text{ZnI}-(\text{CH}_2)_4-\text{CN}$  en présence de nickel (0) comme catalyseur. Le nitrile obtenu est hydrogéné par  $\text{H}_2$  sur Pd/C dans l'éthanol, puis mis en présence d'anhydride succinique.

### REVENDEICATIONS

1. Utilisation d'un composé organique comprenant un cycle aromatique noté Ar substitué par au moins un substituant hydrocarboné noté A, ledit  
5 substituant hydrocarboné comportant :
  - une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée notée  $-CH_2A'$  comprenant au moins un atome de carbone, et
  - un substituant noté  $F_a$  comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton susceptible d'engager une ou des liaisons  
10 hydrogène,
  - pour provoquer l'inhibition allostérique de la protéine Tat.
2. Utilisation selon la revendication 1 caractérisée en ce que le cycle  
15 aromatique Ar est un dérivé du toluène ou un hydrocarbure aromatique polycyclique condensé.
3. Utilisation selon la revendication 2 caractérisée en ce que le cycle  
20 aromatique Ar est choisi parmi le naphtalène, l'antracène, le phénanthrène, le fluoranthène, l'acéanthrylène et le triphène.
4. Utilisation selon la revendication 3 caractérisée en ce que le cycle  
aromatique est un triphène.
5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4 caractérisée en ce que le  
25 cycle aromatique interagit avec le tryptophane n°11 de la protéine Tat, et avec la phénylalanine n° 38 de la protéine Tat.
6. Utilisation selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce  
30 que le substituant  $F_a$  engage une ou des liaisons hydrogène avec la région basique de la protéine Tat et la région N-terminal de Tat.
7. Utilisation selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce  
que la fonction donneur ou accepteur de proton du substituant  $F_a$  est  
située à une distance comprise entre 5 et 10 Å du cycle aromatique.

8. Utilisation selon la revendication 7 caractérisée en ce que la fonction donneur ou accepteur de proton du substituant  $F_a$  est située à une distance comprise entre 6 et 7 Å du cycle aromatique.
- 5
9. Utilisation selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce que la chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée  $-CH_2A'$  comprend 1 à 8 atomes, parmi lesquels des atomes de carbone et éventuellement un ou deux hétéroatomes.
- 10
10. Utilisation selon la revendication 9 caractérisée en ce que la chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée  $-CH_2A'$  comprend un atome de carbone et  $F_a$  représente un hydroxyle, si bien que A représente  $-CH_2OH$ .
- 15
11. Utilisation selon la revendication 9 caractérisée en ce que la chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée  $-CH_2A'$  comprend 5 atomes de carbone.
- 20
12. Utilisation selon l'une des revendications précédentes à l'exception de la revendication 10 caractérisée en ce que le substituant  $F_a$  comprend au moins deux fonctions accepteurs de proton.
- 25
13. Utilisation selon la revendication 12 caractérisée en ce que le substituant  $F_a$  comprend au moins deux fonctions accepteurs de proton situées dans le plan du cycle aromatique ou du même côté du plan du cycle aromatique.
- 30
14. Utilisation selon la revendication 12 ou 13 caractérisée en ce que la fonction accepteur de proton est un carbonyle.
15. Utilisation selon la revendication 14 caractérisée en ce que le substituant  $F_a$  répond à la formule :



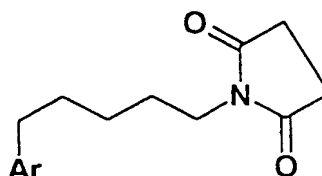


dans laquelle Y représente N ou CH et le trait pointillé représente une éventuelle double liaison.

- 5 16. Utilisation selon la revendication 15 caractérisée en ce que le substituant  $F_a$  est un maléimide ou un succinimide.

17. Utilisation selon la revendication 16 caractérisée en ce que le composé répond à la formule :

10



18. Utilisation selon la revendication 17 caractérisée en ce que Ar représente le triphène.

- 15 19. Utilisation selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce que le cycle aromatique Ar substitué par A comprend en outre au moins un autre substituant noté B ou C, ledit substituant pouvant comporter au moins un atome de carbone, et pouvant comporter un substituant noté  $F_b$  ou  $F_c$  comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton susceptible d'engager une ou des liaisons hydrogène avec la protéine Tat.

20

20. Utilisation selon la revendication 19 caractérisée en ce que le cycle aromatique comprend deux autres substituants aliphatiques notés B et C.

- 25 21. Utilisation selon la revendication 19 ou 20 caractérisée en ce que B ou C représente un méthyle.

22. Utilisation selon la revendication 19 ou 20 caractérisée en ce que B ou C comporte au moins une fonction donneur ou accepteur de proton.

5 23. Utilisation selon la revendication 23 caractérisée en ce que B ou C représente -COOH.

24. Utilisation selon la revendication 23 caractérisée en ce que B ou C comporte au moins une fonction hydroxy.

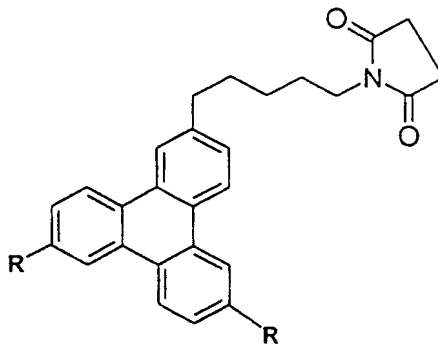
10

25. Utilisation selon la revendication 24 caractérisée en ce que B ou C représente -CH<sub>2</sub>OH.

15 26. Utilisation selon la revendication 23 caractérisée en ce que B ou C comporte deux fonctions donneur ou accepteur de proton situées

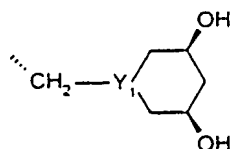
- dans le plan du cycle aromatique, ou
- du même côté du plan du cycle aromatique.

20 27. Utilisation selon l'une des revendications 18 à 26 caractérisée en ce que le composé organique répond à la formule



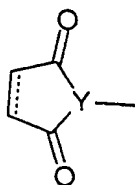
dans laquelle R représente un hydrogène, un méthyle (composé noté TDS1),  
-CH<sub>2</sub>OH (composé noté TDS4), ou  
le groupement de formule

25



dans laquelle Y1 représente N (composé noté TDS2), ou CH (composé noté TDS3).

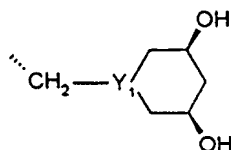
- 5 28. Dérivés du triphène substitués par un substituant hydrocarboné A comportant une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée et, à l'extrémité de cette chaîne un substituant comportant au moins une fonction dotée d'un doublet accepteur ou donneur de proton, à l'exception
- 10 des dérivés du triphène substitués en position 2 par  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$  ou  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{OH})_2$ .
29. Dérivés selon la revendication 28 caractérisés en ce que la chaîne linéaire non fonctionnalisée comporte jusqu'à 8 atomes.
- 15 30. Dérivés selon l'une des revendications 28 et 29 caractérisés en ce que le substituant situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique linéaire comporte au moins deux fonctions dotées d'un doublet accepteur de proton.
- 20 31. Dérivés selon la revendication 30 caractérisés en ce que le substituant comporte deux fonctions dotées d'un doublet accepteur de proton situées dans un même plan.
32. Dérivés selon l'une des revendications 28 à 31, caractérisés en ce que la fonction dotée d'un doublet accepteur de proton est un carbonyle.
- 25 33. Dérivés selon la revendication 32 caractérisés en ce que le substituant situé à l'extrémité de la chaîne répond à la formule :



dans laquelle Y représente N ou CH et le trait pointillé représente une éventuelle double liaison.

- 5 34. Dérivés selon la revendication 33 caractérisé en ce que le groupement hydrocarboné est un maléimide ou un succinimide.
35. Dérivés du triphène di- ou tri-substitués comportant
- un substituant hydrocarboné A comportant une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée et, à l'extrémité de cette chaîne, un substituant comprenant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton, et
  - au moins un deuxième substituant B ou C.
- 10
36. Dérivés selon la revendication 35 caractérisés en ce que la chaîne aliphatique linéaire de A comprend jusqu'à 8 atomes, parmi lesquels des atomes de carbone et éventuellement un ou deux hétéroatomes.
- 15
37. Dérivés selon la revendication 36 caractérisés en ce que la chaîne aliphatique linéaire de A comporte 5 atomes.
- 20
38. Dérivés selon l'une des revendications 35 à 37 caractérisés en ce que le substituant situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique linéaire comporte au moins deux fonctions dotées d'un doublet accepteur de proton.
- 25 39. Dérivés selon la revendication 38 caractérisés en ce que le groupement situé à l'extrémité de la chaîne aliphatique linéaire comporte deux fonctions dotées d'un doublet accepteur de proton situées dans un même plan.
- 30 40. Dérivés selon l'une des revendications 35 à 39, caractérisés en ce que la fonction dotée d'un doublet accepteur de proton est un carbonyle.

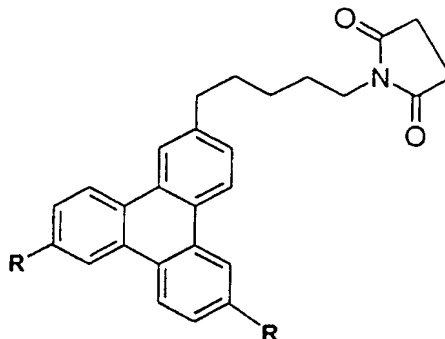
41. Dérivés selon l'une des revendication 35 à 39, caractérisés en ce que B et/ou C sont, l'un indépendamment de l'autre, des substituants aliphatiques comportant 1 à 4 atomes de carbone.
- 5 42. Dérivés selon la revendication 41 caractérisés en ce que B et C représentent un méthyle.
43. Dérivés selon les revendications 35 à 40 caractérisés en ce B et/ou C sont, l'un indépendamment de l'autre, dotés d'au moins une fonction
- 10 donneur ou accepteur de proton.
44. Dérivés selon la revendication 43 caractérisés en ce que B et C représentent  $\text{-CH}_2\text{OH}$ .
- 15 45. Dérivés selon la revendication 43 caractérisés en ce que B et/ou C sont, l'un indépendamment de l'autre, dotés de deux fonctions donneur ou accepteur de proton disposées dans l'espace de telle sorte que les fonctions sont situées
- dans le plan du noyau triphène ou
  - 20 - du même côté du plan du noyau triphène.
46. Dérivés selon la revendication 45 caractérisés en ce que B et C sont identiques et représentent chacun :



Y1 étant un atome d'azote ou un groupement CH.

25

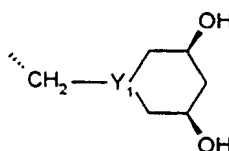
47. Dérivés selon l'une des revendications 35 à 46, de formule :



dans laquelle R représente un méthyle (composé noté TDS1),

-CH<sub>2</sub>OH (composé noté TDS4), ou

le groupement de formule :



- 5      dans laquelle Y1 représente N (composé noté TDS2), ou CH (composé noté TDS3).

48. 2,6,10-trihydroxyméthyl-triphène et 2,6,10-tricarboxy-triphène.

- 10    49. Procédé de préparation d'un des composés trisubstitués Ar(ABC) selon l'une des revendications 35 à 47 tels que A (noté CH<sub>2</sub>-A'<sub>a</sub>) comporte une chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée (CH<sub>2</sub>-A'), substituée à son extrémité par un groupement doté d'au moins une fonction accepteur ou accepteur de proton (F<sub>a</sub>),
- 15    caractérisé en ce qu'il utilise comme produit intermédiaire un dérivé de formule P<sub>a</sub>A'-H<sub>2</sub>C-Ar-(CH<sub>2</sub>Z)<sub>2</sub> dans laquelle -CH<sub>2</sub>A' est défini comme précédemment, P<sub>a</sub> représente un groupement protecteur hydrolysable, et Z représente un hydrogène, un halogène ou une fonction alcool protégée.
- 20    50. Procédé selon la revendication 49 caractérisé en ce que Z est un brome ou un groupement trialkylsilyloxy.

51. Procédé selon l'une des revendications 49 ou 50 caractérisé en ce qu'il utilise comme produit de départ  $\text{Ar}(\text{CH}_3)_3$ .
52. Procédé selon l'une des revendications 49 à 51 caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes :
- 5 (a) fixation de la chaîne aliphatique linéaire non fonctionnalisée  $-\text{CH}_2\text{A}'$ ,
- (b) éventuelle fixation des substituants B et C, et
- (c) fixation d'un substituant comportant au moins une fonction
- 10 accepteur ou donneur de proton  $\text{F}_a$ , sur la chaîne non fonctionnalisée  $-\text{CH}_2\text{A}'$ .
53. Procédé selon l'une des revendications 49 à 52 caractérisé en ce que le dérivé  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar}(\text{CH}_2\text{Z})_2$  est obtenu par synthèse magnésienne, en utilisant le composé de formule  $\text{P}_a\text{A}'\text{-MgX}^1$ , dans laquelle  $\text{X}^1$  est un atome
- 15 d'halogène,  $\text{P}_a\text{A}'\text{-MgX}^1$  étant par exemple  $\text{BnO}(\text{CH}_2)_n\text{-MgBr}$ , n étant supérieur à 1, et Bn représentant un benzyle.
54. Procédé selon l'une des revendications 49 à 53 caractérisé en ce que les composés  $\text{Ar}(\text{ABC})$  sont tels que B et C représentent un méthyle, et en ce qu'on procède à la monohalogénation de  $\text{Ar}(\text{Me})_3$  pour obtenir  $(\text{X}^2\text{-H}_2\text{C})\text{-Ar}(\text{Me})_2$ ,  $\text{X}^2$  représentant un halogène.
- 20 55. Procédé selon l'une des revendications 49 à 53, caractérisé en ce que les composés  $\text{Ar}(\text{ABC})$  sont tels que les groupements B et C comprennent chacun au moins une fonction accepteur ou donneur de proton ( $\text{F}_b$  et  $\text{F}_c$ ), et tels que les liaisons engagées par  $\text{F}_b$  et  $\text{F}_c$  avec  $\text{A-Ar}(\text{CH}_2)_2$  sont des liaisons carbone-carbone, et en ce que l'intermédiaire  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar}(\text{CH}_2\text{Z})_2$  est tel que Z représente une fonction alcool protégée ou un
- 25 30 halogène.
56. Procédé selon la revendication 55 caractérisé en ce que, lorsque Z représente un halogène, un ylure issu de  $\text{P}_a\text{A}'\text{-H}_2\text{C-Ar}(\text{CH}_2\text{Z})_2$  est mis à

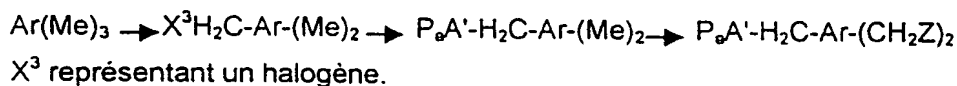
réagir avec une cétone comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton  $F_b$  et/ou  $F_c$ .

57. Procédé selon la revendication 56 caractérisé en ce que l'ylure issu de  
 5  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  est obtenu directement à partir de  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  ou en passant par  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2SO_2Ph)_2$ .

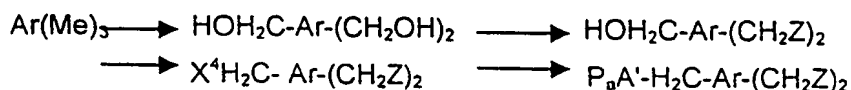
58. Procédé selon la revendication 55 caractérisé en ce que, lorsque Z  
 10 représente une fonction alcool protégée, un aldéhyde obtenu par oxydation de  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  est mis en présence de précurseurs ylures de  $F_b$  et  $F_c$ .

59. Procédé selon l'une des revendications 49 à 53, caractérisé en ce que les  
 15 composés  $Ar(ABC)$  sont tels que les groupements B et C comprennent chacun au moins une fonction accepteur ou donneur de proton ( $F_b$  et  $F_c$ ), et tels que les liaisons engagées par  $F_b$  et  $F_c$  avec  $A-Ar-(CH_2-)_2$  sont des liaisons carbone-azote, et en ce que l'intermédiaire  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  est tel que Z représente un halogène ou une fonction alcool protégée.

20 60. Procédé selon 59 caractérisé en ce que Z représente un halogène et en ce qu'il comporte les étapes suivantes :



25 61. Procédé selon 59 caractérisé en ce que Z représente une fonction alcool protégé et l'étape (a) suit le schéma suivant



30  $X^4$  représentant un halogène.

62. Procédé selon 60 caractérisé en ce que le composé  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  tel que Z représente un halogène, est mis à réagir avec un composé du

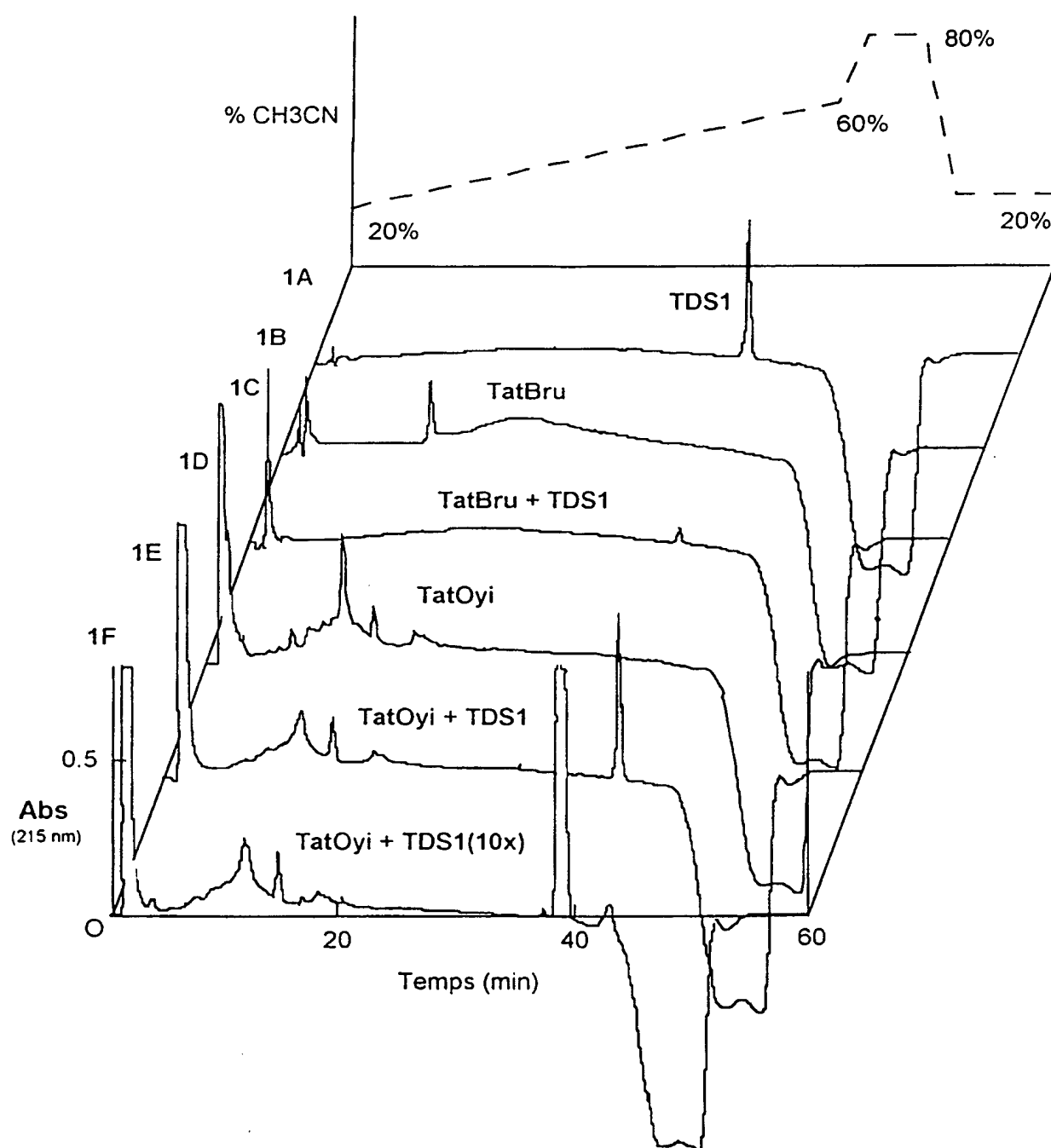


type amine secondaire comportant au moins une fonction donneur ou accepteur de proton  $F_b$  et/ou  $F_c$ .

- 5 63. Procédé selon l'une des revendications 49 à 53, caractérisé en ce que les composés  $Ar(ABC)$  sont tels que les groupements B et C comprennent chacun au moins une fonction accepteur ou donneur de proton ( $F_b$  et  $F_c$ ), et tels que les liaisons engagées par  $F_b$  et  $F_c$  avec  $A-Ar-(CH_2)_2$  sont des liaisons carbon-oxygène, et en ce que l'intermédiaire  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$  est tel que Z représente une fonction alcool protégée.
- 10 64. Procédé selon la revendication 63 caractérisé en ce que lorsque B et C représentent  $CH_2OH$ ,  $F_b$  et  $F_c$  représentent OH et l'étape (b) consiste à déprotéger la fonction alcool de  $P_aA'-H_2C-Ar-(CH_2Z)_2$ .
- 15 65. Procédé selon l'une des revendications 52 à 64 caractérisé en ce que lorsque  $F_a$  représente un maléimide ou un succinimide, l'étape (c) suit les conditions de la réaction de Mitsunobu.
- 20 66. Procédé selon l'une des revendications 52 à 65, caractérisé en ce que le noyau aromatique est un triphène.
- 25 67. Composés selon l'une des revendications 1 à 48 susceptibles d'être obtenus par le procédé de l'une des revendications 49 à 66 pour leur application en tant que substances thérapeutiquement actives.
68. Composés selon la revendication 67 en tant qu'agents anti-rétroviraux pour le traitement ou la prévention des infections dues à un rétrovirus, notamment le VIH.
- 30 69. Préparations pharmaceutiques contenant un composé selon la revendication 67 ou 68, et un excipient pharmaceutiquement inerte.
70. Préparations pharmaceutiques selon la revendication 69 contenant un mélange d'un composé selon la revendication 68 et d'un autre agent

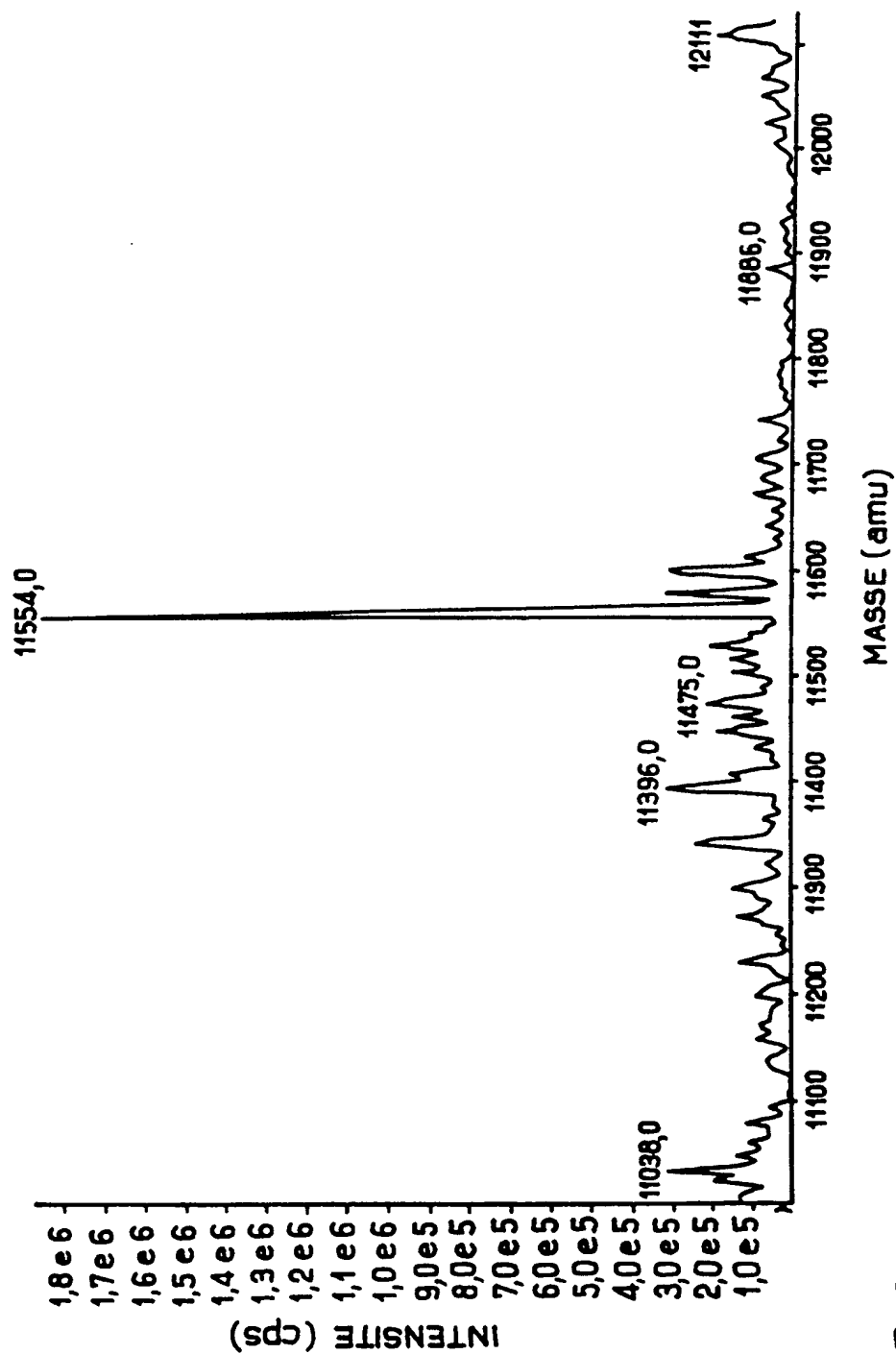
antirétroviral, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps, dans un thérapie anti-rétrovirale.

1 / 9

**FIG - 1**

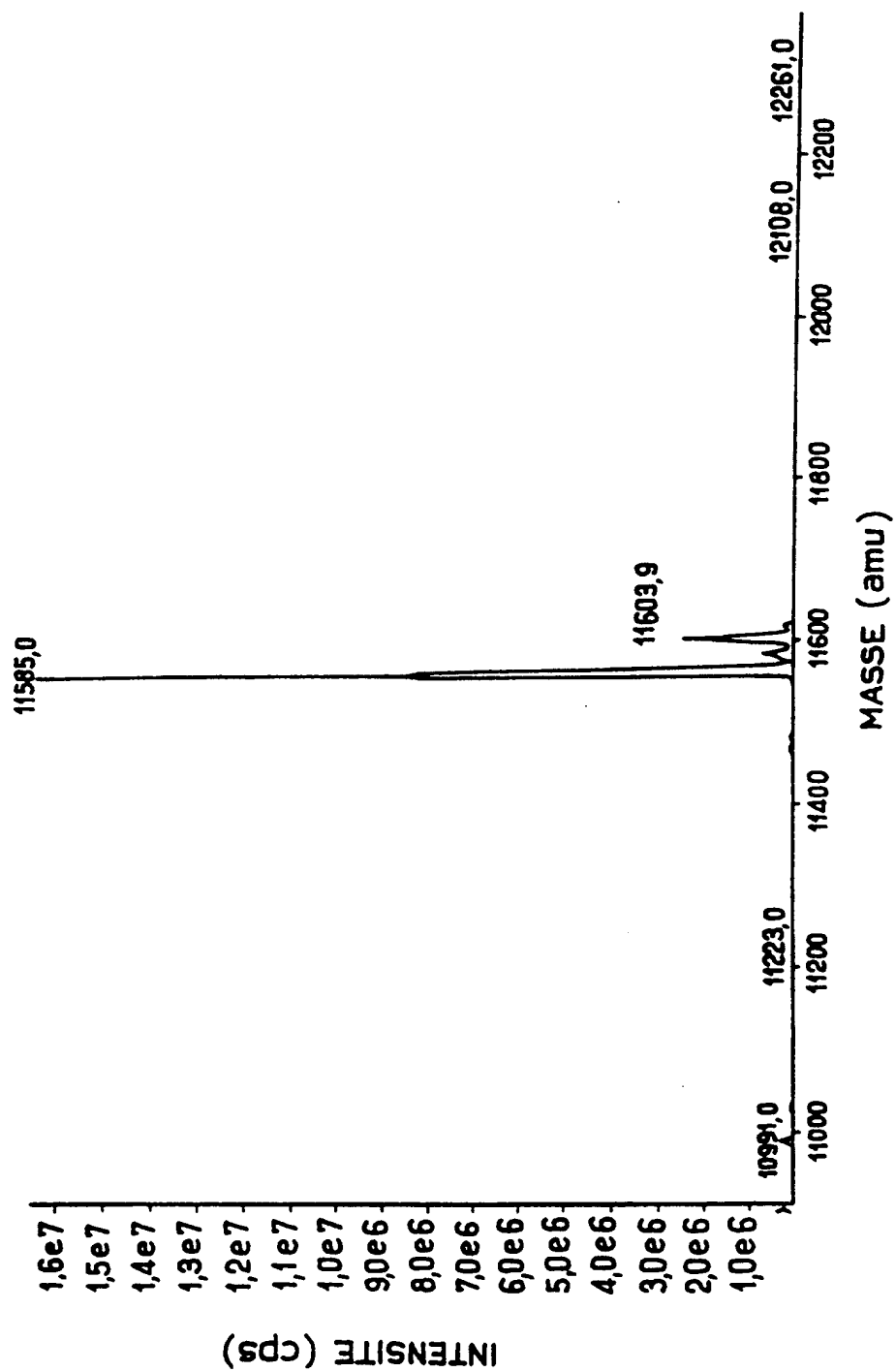


2 / 9

FIG. 2A



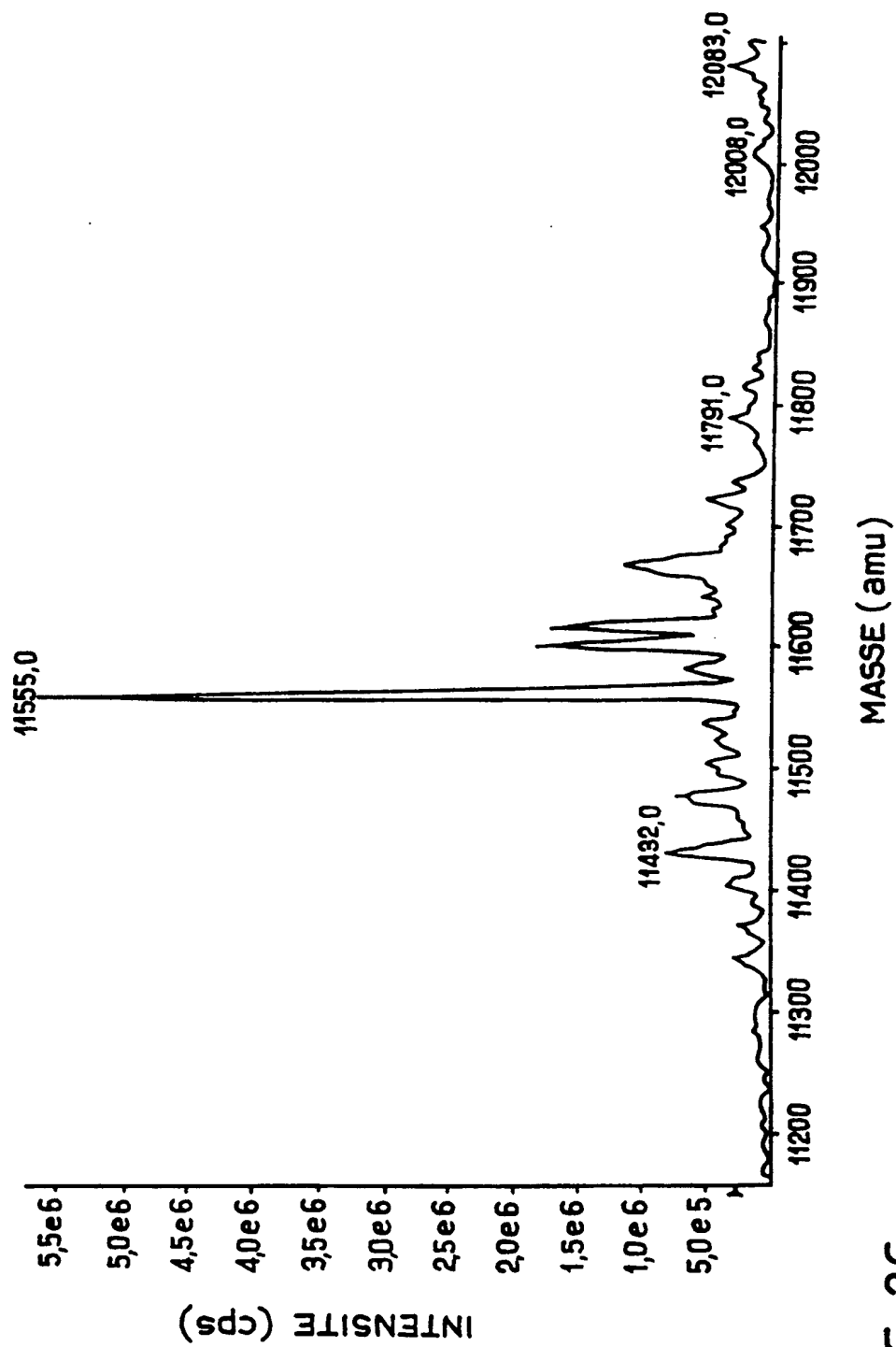
3 / 9

FIG.2B





4 / 9

FIG. 2C



5 / 9

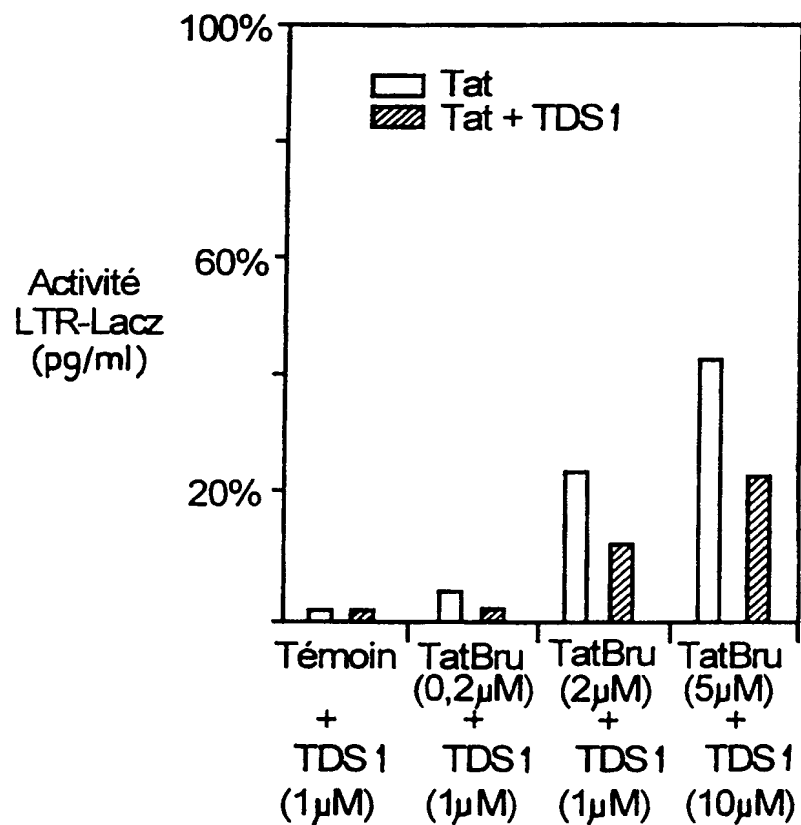


FIG - 3A

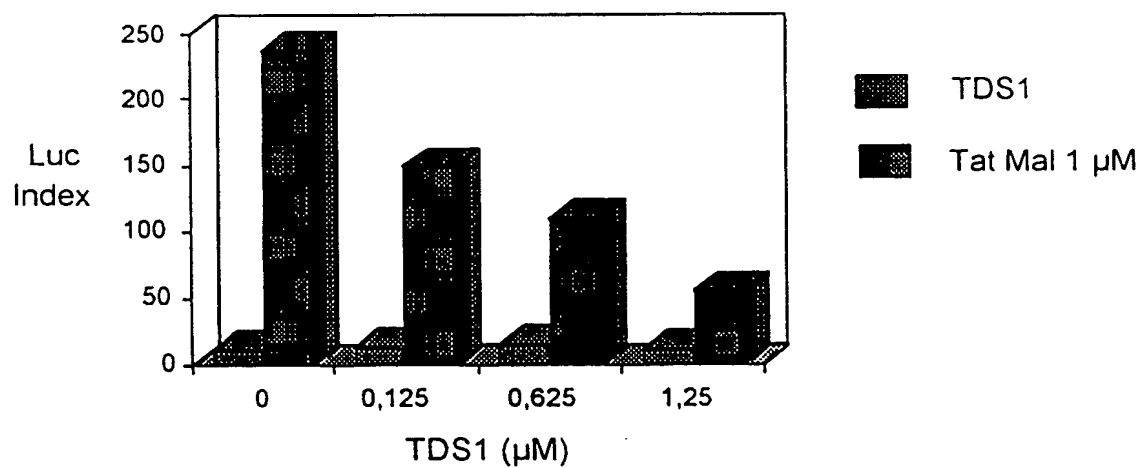
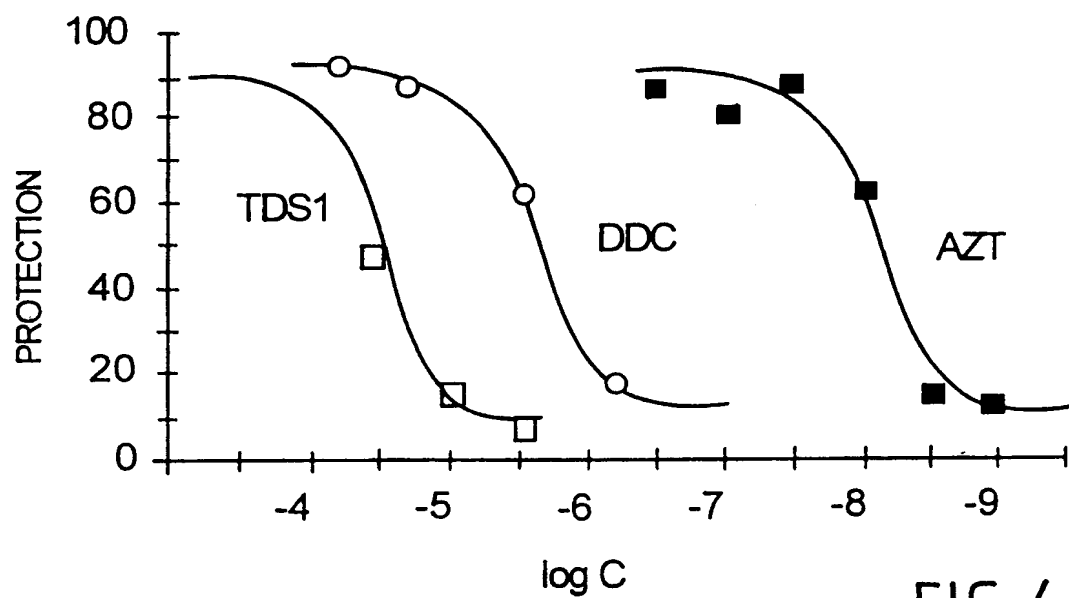
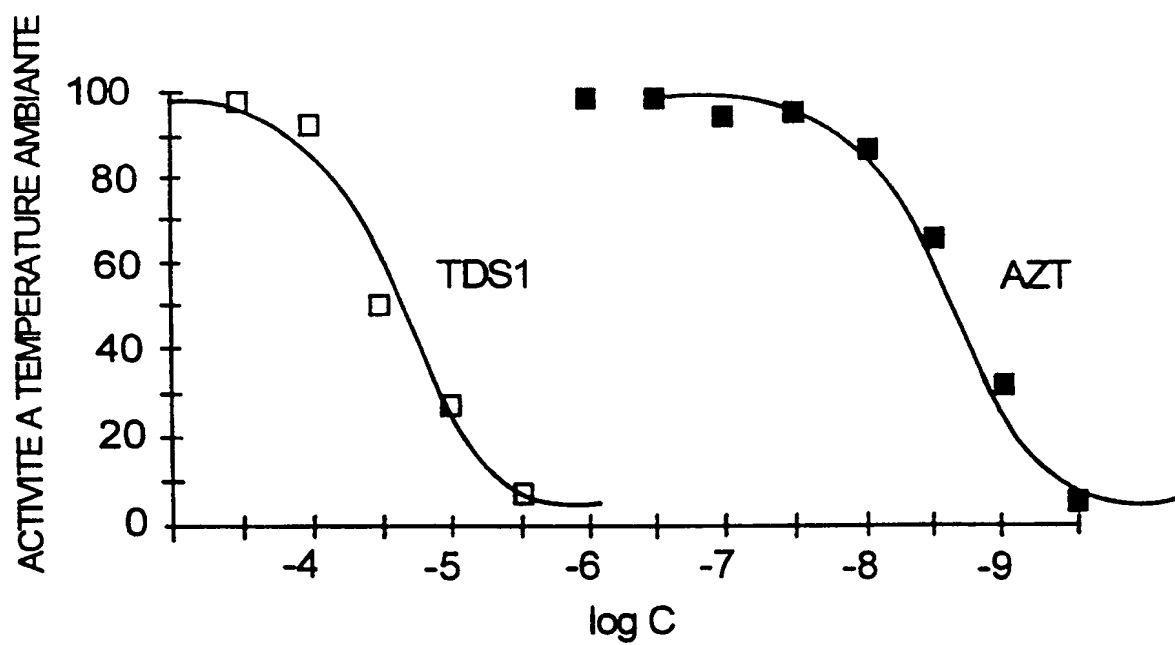


FIG - 3B

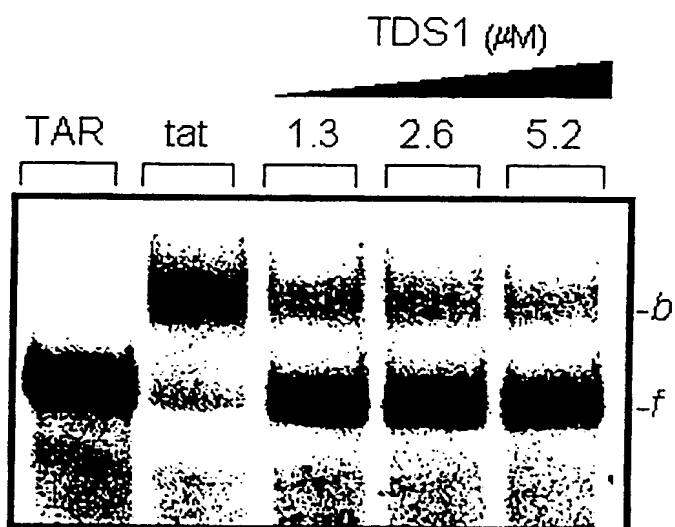
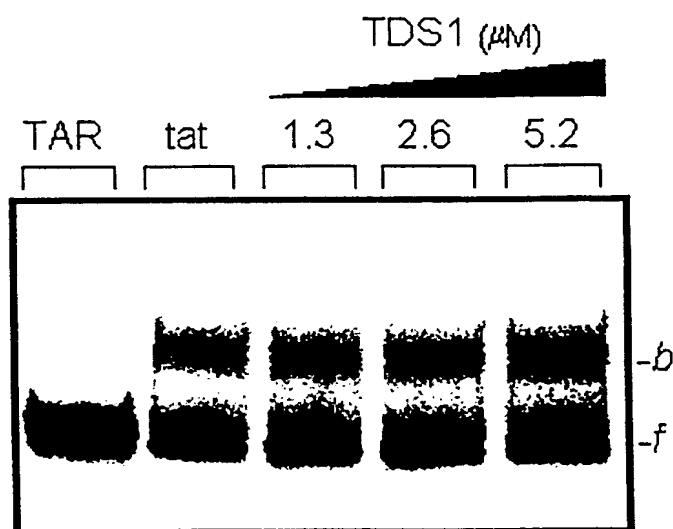


6 / 9

FIG. 4AFIG. 4B



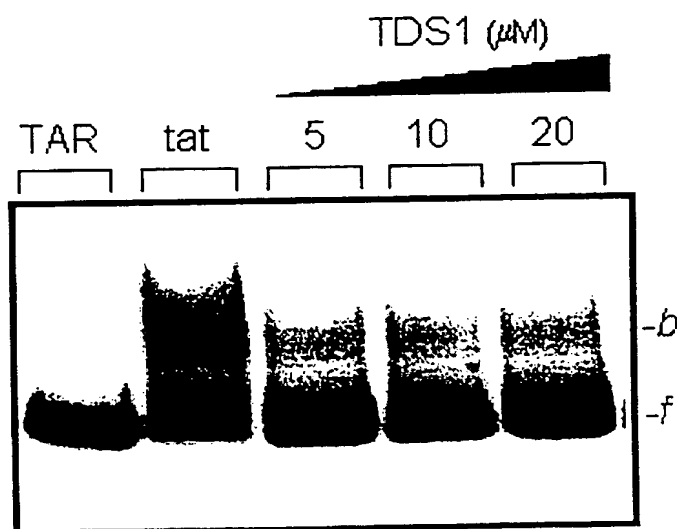
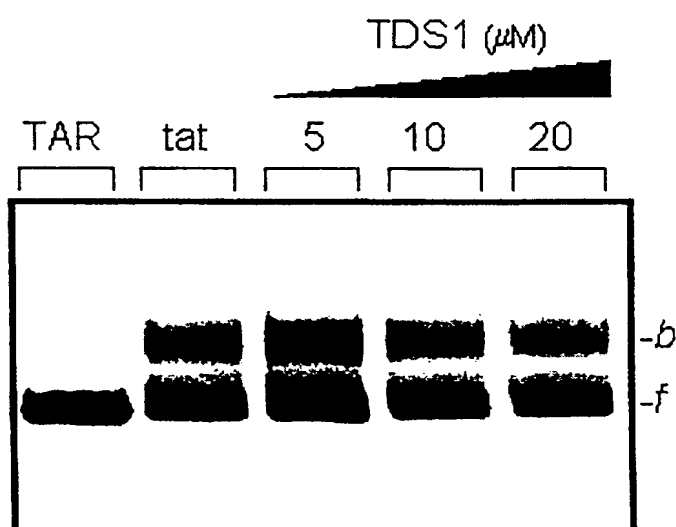
7 / 9

FIG - 5AFIG - 5B



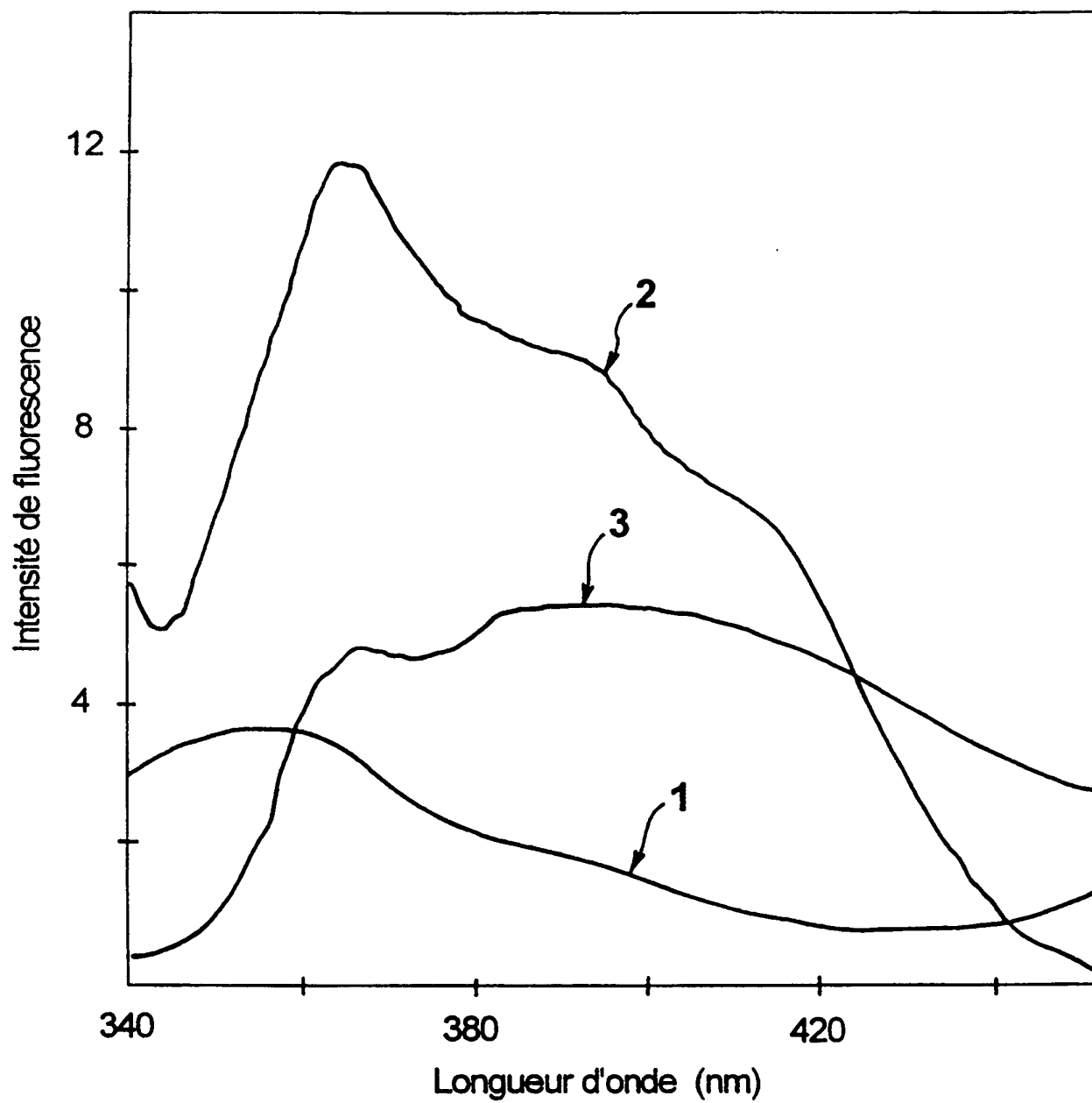


8 / 9

FIG - 6AFIG - 6B



9 / 9

FIG. 7



.

.

.

.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/00363

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07D207/44 C07D401/10 A61K31/445 A61K31/40

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 551 282 A (BAIR K W) 5 November 1985 (1985-11-05) column 7 - column 8; claims; example 1 ---	28
A	EP 0 125 702 A (WELLCOME FOUNDATION LTD.;UK) 21 November 1984 (1984-11-21) abstract page 44 - page 45; example 15; table page 49; example 56; table page 59 ---	28
A	---	1, 67, 69
A	GORE P H ET AL: "Friedel-Crafts cyanation of some reactive aromatic hydrocarbons" TETRAHEDRON (TETRAB,00404020);79; VOL.35 (24); PP.2927-9, XP002083393 Brunel Univ.;Sch. Chem.; Uxbridge; UB8 3PH; Engl. page 2928, column 2, line 28 - line 58 --- -/--	28



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 July 1999

Date of mailing of the international search report

26/07/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Paisdor, B

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/00363

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>STEEMERS F J ET AL: "New Sensitizer-Modified Calix'4!arenes Enabling Near-UV Excitation of Complexed Luminescent Lanthanide Ions"  J. AM. CHEM. SOC. (JACSAT,00027863);95;  VOL.117 (37); PP.9408-14, XP002083394  University of Twente;Laboratories of Organic Chemistry; Enschede; 7500 AE; Neth. (NL)  page 9409, column 1; figure 1; examples 5-7  page 9412, column 2 - page 9413, column 1; examples 5-7</p> <p style="text-align: center;">---</p>	28
A	<p>TANGA M J ET AL: "Synthesis of phenanthro'9,10-g!isoquinoline"  J. HETEROCYCL. CHEM. (JHTCAD,0022152X);87;  VOL.24 (1); PP.39-41, XP002083395  SRI Int.;Menlo Park; 94025; CA; USA (US)  page 39; figure I; example 6  page 40, column 2; example 6</p> <p style="text-align: center;">---</p>	28
A	<p>WO 97 27179 A (CIBA GEIGY AG ;FREI JOERG (CH); FAESSLER ALEXANDER (GB); FLOERSHEI)  31 July 1997 (1997-07-31)  page 1 - page 3  page 64, paragraph 4 - page 65, paragraph 4  abstract; examples</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,67,69
A	<p>GB 2 271 566 A (MERCK &amp; CO INC)  20 April 1994 (1994-04-20)  page 10, paragraph 2; claims</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1,67,69

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat. Application No

PCT/FR 99/00363

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4551282	A	05-11-1985	US 4717729 A	05-01-1988
EP 0125702	A	21-11-1984	AT 36147 T	15-08-1988
			AT 28857 T	15-08-1987
			AU 599215 B	12-07-1990
			AU 1305288 A	16-06-1988
			AU 572509 B	12-05-1988
			AU 2809884 A	06-12-1984
			CA 1222750 A	09-06-1987
			CS 8901087 A	14-08-1990
			CS 8901088 A	14-08-1990
			CS 8403645 A	14-08-1990
			CY 1486 A	08-12-1989
			DD 223439 A	12-06-1985
			DE 3473141 A	08-09-1988
			DK 242284 A	18-11-1984
			EG 17595 A	30-06-1990
			EP 0125701 A	21-11-1984
			FI 841966 A,B	18-11-1984
			GB 2140416 A,B	28-11-1984
			GR 82278 A	13-12-1984
			HK 45089 A	09-06-1989
			IE 58416 B	22-09-1993
			JP 59225149 A	18-12-1984
			JP 1638418 C	31-01-1992
			JP 3004056 B	22-01-1991
			JP 59225150 A	18-12-1984
			JP 1964913 C	25-08-1995
			JP 3047157 A	28-02-1991
			JP 6084336 B	26-10-1994
			KE 3873 A	30-06-1989
			PH 22265 A	01-07-1988
			PT 78586 A	01-06-1984
			SU 1535377 A	07-01-1990
			SU 1466648 A	15-03-1989
			US 4808632 A	28-02-1989
			US 4808625 A	28-02-1989
			US 4803222 A	07-02-1989
			US 4820873 A	11-04-1989
			US 4803226 A	07-02-1989
			US 4530800 A	23-07-1985
			US 4719055 A	12-01-1988
			US 4720587 A	19-01-1988
			US 4719049 A	12-01-1988
			US 4719236 A	12-01-1988
			US 4719047 A	12-01-1988
WO 9727179	A	31-07-1997	AU 1592197 A	20-08-1997
GB 2271566	A	20-04-1994	NONE	



,

,

,

,



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demanda internationale No

PCT/FR 99/00363

<b>A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE</b> CIB 6 C07D207/44 C07D401/10 A61K31/445 A61K31/40		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
<b>B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b> Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 6 C07D A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS</b>		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 4 551 282 A (BAIR K W) 5 novembre 1985 (1985-11-05) colonne 7 - colonne 8; revendications; exemple 1 ---	28
A	EP 0 125 702 A (WELLCOME FOUNDATION LTD.;UK) 21 novembre 1984 (1984-11-21) abrégé page 44 - page 45; exemple 15; tableau page 49; exemple 56; tableau page 59 ---	28
A	---	1,67,69
--- /---		
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée  15 juillet 1999		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale  26/07/1999
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé  Paisdor, B

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 99/00363

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>GORE P H ET AL: "Friedel-Crafts cyanation of some reactive aromatic hydrocarbons" TETRAHEDRON (TETRAB,00404020);79; VOL.35 (24); PP.2927-9, XP002083393 Brunel Univ.;Sch. Chem.; Uxbridge; UB8 3PH; Engl. page 2928, colonne 2, ligne 28 - ligne 58</p>	28
A	<p>STEEMERS F J ET AL: "New Sensitizer-Modified Calix'4!arenes Enabling Near-UV Excitation of Complexed Luminescent Lanthanide Ions" J. AM. CHEM. SOC. (JACSAT,00027863);95; VOL.117 (37); PP.9408-14, XP002083394 University of Twente;Laboratories of Organic Chemistry; Enschede; 7500 AE; Neth. (NL) page 9409, colonne 1; figure 1; exemples 5-7 page 9412, colonne 2 - page 9413, colonne 1; exemples 5-7</p>	28
A	<p>TANGA M J ET AL: "Synthesis of phenanthro'9,10-g!isoquinoline" J. HETEROCYCL. CHEM. (JHTCAD,0022152X);87; VOL.24 (1); PP.39-41, XP002083395 SRI Int.;Menlo Park; 94025; CA; USA (US) page 39; figure 1; exemple 6 page 40, colonne 2; exemple 6</p>	28
A	<p>WO 97 27179 A (CIBA GEIGY AG ;FREI JOERG (CH); FAESSLER ALEXANDER (GB); FLOERSHEI) 31 juillet 1997 (1997-07-31) page 1 - page 3 page 64, alinéa 4 - page 65, alinéa 4 abrégé; exemples</p>	1,67,69
A	<p>GB 2 271 566 A (MERCK &amp; CO INC) 20 avril 1994 (1994-04-20) page 10, alinéa 2; revendications</p>	1,67,69

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 99/00363

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4551282	A	05-11-1985	US 4717729 A	05-01-1988
EP 0125702	A	21-11-1984	AT 36147 T	15-08-1988
			AT 28857 T	15-08-1987
			AU 599215 B	12-07-1990
			AU 1305288 A	16-06-1988
			AU 572509 B	12-05-1988
			AU 2809884 A	06-12-1984
			CA 1222750 A	09-06-1987
			CS 8901087 A	14-08-1990
			CS 8901088 A	14-08-1990
			CS 8403645 A	14-08-1990
			CY 1486 A	08-12-1989
			DD 223439 A	12-06-1985
			DE 3473141 A	08-09-1988
			DK 242284 A	18-11-1984
			EG 17595 A	30-06-1990
			EP 0125701 A	21-11-1984
			FI 841966 A, B	18-11-1984
			GB 2140416 A, B	28-11-1984
			GR 82278 A	13-12-1984
			HK 45089 A	09-06-1989
			IE 58416 B	22-09-1993
			JP 59225149 A	18-12-1984
			JP 1638418 C	31-01-1992
			JP 3004056 B	22-01-1991
			JP 59225150 A	18-12-1984
			JP 1964913 C	25-08-1995
			JP 3047157 A	28-02-1991
			JP 6084336 B	26-10-1994
			KE 3873 A	30-06-1989
			PH 22265 A	01-07-1988
			PT 78586 A	01-06-1984
			SU 1535377 A	07-01-1990
			SU 1466648 A	15-03-1989
			US 4808632 A	28-02-1989
			US 4808625 A	28-02-1989
			US 4803222 A	07-02-1989
			US 4820873 A	11-04-1989
			US 4803226 A	07-02-1989
			US 4530800 A	23-07-1985
			US 4719055 A	12-01-1988
			US 4720587 A	19-01-1988
			US 4719049 A	12-01-1988
			US 4719236 A	12-01-1988
			US 4719047 A	12-01-1988
WO 9727179	A	31-07-1997	AU 1592197 A	20-08-1997
GB 2271566	A	20-04-1994	AUCUN	

